

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1909-1910.

N° 4.

ESSAI

SUR

L'ADAPTATION DES BACTÉRIES

aux Antiseptiques

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Janvier 1910

PAR

Louis MASSON

Pharmacien de 1^{re} Classe.

JURY { MM. RADAIS, Président.
GRIMBERT, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

1910



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547127_0084

UNIVERSITÉ DE PARIS

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

Année 1909-1910.

N° 4.

ESSAI

SUR

L'ADAPTATION DES BACTÉRIES

aux Antiseptiques

THÈSE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris

(PHARMACIE)

Présentée et soutenue le Janvier 1910

PAR

Louis MASSON

Pharmacien de 1^{re} Classe.



JURY

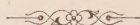
MM. RADAIS, Président.
GRIMBERT, Professeur.
GUÉGUEN, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

—
1910

PERSONNEL DE L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE



ADMINISTRATION

- MM. GUIGNARD, Directeur, Membre de l'Institut, O. *,  I.
BOUCHARDAT, Assesseur, O. *,  I.
E. MUSSON, Secrétaire,  I.

PROFESSEURS

- | | |
|--|----------------------------|
| MM. BOUCHARDAT, O. *,  I. | Hydrologie et Minéralogie. |
| GUIGNARD, Membre de l'Institut, O. *,  I. | Botanique générale. |
| VILLIERS, *,  I. | Chimie analytique. |
| BOURQUELOT, *,  I. | Pharmacie galénique. |
| GAUTIER, *,  I. | Chimie minérale. |
| RADAIS,  I. | Cryptogamie. |
| BÉHAL, *,  I. | Chimie organique. |
| PERROT, *,  I. | Matière médicale. |
| COUTIÈRE,  I. | Zoologie. |
| BERTHELOT,  I. | Physique. |
| GRIMBERT,  I. | Chimie biologique. |
| MOUREU, *,  I. | Pharmacie chimique |
| LEBEAU,  I. | Toxicologie. |

Professeurs honoraires :

- MM. MARCHAND,  I ; JUNGFLEISCH, O. *,  I.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

- | | |
|---|--|
| MM. GUERBET,  I. | MM. GUÉRIN,  I. |
| DELÉPINE,  I. | GUÉGUEN,  I. |
| VALEUR,  A. | LUTZ,  I. |
| BOUGAULT,  A. | HÉRISSEY,  I. |
| TASSILLY,  I. | |

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

- | | |
|---|--------------------|
| MM. DEFACQZ,  I. | Chimie générale. |
| COUSIN,  I. | Chimie analytique. |
| GORIS,  I. | Micrographie. |
| MOURLOT,  I. | Physique. |
| BARTHELAT,  I. | Microbiologie. |

Chef du Laboratoire des examens pratiques : M. JAVILLIER,  A.

Bibliothécaire : M. DORVEAUX,  I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR RADAIS

Hommage de respectueuse gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GUÉGUEN

A MONSIEUR LE DOCTEUR VERWAEST

PHARMACIEN

Hommage de reconnaissance.

INTRODUCTION

Parmi les agents extérieurs susceptibles d'agir sur les Bactériacées, chaleur, lumière, électricité, mouvement, agents chimiques, nous avons choisi ces derniers comme sujet d'études. Sous le terme collectif d'antiseptiques, ils sont, grâce à la diversité de leur composition, susceptibles de fournir à l'expérimentateur des résultats à la fois plus variés et plus généraux. L'un des plus intéressants, sinon des plus importants, est la mesure de la résistance vitale qui peut s'exprimer par la mesure de la dose antiseptique de la substance essayée. Les variations que les autres propriétés biologiques des bactéries (pouvoir pigmentaire, virulence, sporulation) peuvent subir sous l'influence des composés chimiques présentent aussi un vif intérêt, et ont donné lieu à d'intéressantes applications. Enfin la forme elle-même qui peut être altérée comme aussi le degré de persistance de ces altérations, fournissent d'utiles renseignements à la question toujours discutée du transformisme.

« C'est par leurs fonctions, — écrit RODET [73], — que les
« microbes ont le plus attiré l'attention ; agents de fermenta-
« tion, agents de maladies et très redoutables pour l'homme,
« ils ont dû intéresser les chimistes et les médecins plus
« que les naturalistes. Aussi, plus que pour tous les autres
« êtres, les caractères fonctionnels ont-ils été pris comme
« caractères spécifiques et dotés d'une valeur supérieure à
« celle des caractères végétatifs, c'est-à-dire que la varia-
« bilité des fonctions a pris ici une importance qu'elle

« n'avait pas jusque-là en histoire naturelle et que l'on
« s'intéresse même plus aux variations fonctionnelles
« qu'aux variations morphologiques. La variabilité des
« propriétés fonctionnelles a sans doute un puissant inté-
« rêt lorsque l'on considère les microbes comme agents
« de maladies ou de phénomènes chimiques, et le médecin
« et le physiologiste ont le droit de mettre au second
« plan ce qui concerne la morphologie ; mais au point de
« vue de la biologie générale, qui ne doit voir dans les
« microbes qu'une catégorie d'êtres vivants, les variations
« morphologiques présentent un intérêt supérieur, et fina-
« lement il n'y a pas lieu de faire ici une exception au
« principe général d'après lequel c'est surtout dans la
« morphologie qu'on doit rechercher la variabilité.

« S'il n'y a pas de sérieuses raisons, — écrit le même
« auteur, — pour mettre les microbes en dehors des lois
« générales des êtres organisés conformément à ces lois,
« les caractères morphologiques méritent là aussi le pre-
« mier rang comme attribut d'espèce. A un point de vue
« absolu, il en découle directement que les variations
« morphologiques, quant à leur valeur théorique, expri-
« ment les variations fonctionnelles ».

D'autre part, ARLOING [2] dit : « Il est impossible de déter-
« miner l'espèce bactérienne à l'aide d'un critère unique ;
« on doit recourir à un ensemble de caractères parmi
« lesquels on établira une certaine subordination : en
« tête figureront la forme et les propriétés pathogènes. »

« Après avoir été brillamment inaugurée par LEUWEN-
« HÖCK [48], O.-F. MILLE, EHRENBURG [30], DUJAR-
« DIN [26], ROBIN [71], F. COHN [21], DAVAIN [23],
« HOFFMANN [40], cette étude morphologique a été brus-
« quement délaissée ou plutôt détournée vers une autre
« voie. En effet, à peine les premières Bactériacées
« étaient-elles connues, qu'une foule de phénomènes phy-
« siques et chimiques, jusque-là inexpliqués et en relation

« directe avec ces microorganismes ont réclamé une
« solution immédiate. Les admirables travaux de PASTEUR,
« de KOCH et de leurs élèves, les résultats merveilleux
« auxquels sont arrivés ces habiles expérimentateurs au
« point de vue du rôle des Bactériacées et autres micro-
« phytes, dans les fermentations et les putréfactions, rôle
« qui s'est étendu bientôt aux maladies infectieuses, ont
« surexcité le zèle d'une pléiade de chercheurs plus préoc-
« cupés de l'action de ces *microbes*, comme les a nommés
« SÉDILLOT [76 bis], que de leur morphologie » BILLET [10]

Le problème, si nettement énoncé dans les lignes qui précèdent, demeure actuellement en partie irrésolu.

Si l'on peut parler avec une assez grande sûreté des propriétés pathogènes de certaines Bactéries, si des données nombreuses et relativement précises ont été établies quant aux produits qu'elles sécrètent, on est beaucoup moins affirmatif quand il s'agit de leur assigner une place dans la série végétale, ou de délimiter avec précision les causes de leurs variations de forme.

Les auteurs qui se sont occupés des caractères morphologiques des Bactéries se sont partagés en deux camps. Les uns, avec F. COHN [20], prétendent que les genres *Micrococcus*, *Bacterium*, *Bacillus*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Spirochæta*, entre lesquels se répartissent les Bactéries, sont toujours constants dans leur forme ; ce seraient des groupes naturels et bien délimités, de sorte qu'un *Bacillus* ne peut se transformer en *Coccus*, *Spirillum* ou inversement. Les autres, avec BILLROTH [11] et NÆGELI [57 bis], admettent « un polymorphisme presque illimité. Ces formes
« pourraient se transformer les unes dans les autres, et
« ne seraient autre chose que des stades d'évolution d'un
« organisme pléomorphe au plus haut degré » (METCHNIKOFF) [53].

CIENKOWSKI [19], en 1877, reprit l'étude des genres *Leptothrix*, *Cladothrix*, *Crenothrix* nouvellement créés

par F. COHN [20]. Il montra que les Bactéries filiformes peuvent produire des zooglées, dans ces zooglées il constata la présence de formes en *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Bactérium*, et conclut, contrairement aux vues de COHN, que ces formes ne pouvaient constituer des genres distincts.

En 1881, M. ZOPF [93] confirma les données de CIENKOWSKI au sujet des *Cladothrix* et *Crenothrix*, et montra qu'il en était de même pour les *Beggiatoa*.

En 1886, HUEPPE [41] essaya de concilier les deux écoles et réussit à faire adopter le pléomorphisme par la plus grande partie des pathologistes.

En 1887, GUIGNARD et CHARRIN [37] observèrent sur le *Bacillus pyocyaneus* le passage des formes rectilignes aux formes courbes et spiralées dans un bouillon contenant de l'acide borique ; aux formes en cocci et en filaments dans un milieu contenant aussi un antiseptique.

L'année suivante, WINOGRADSKY [92], dans trois mémoires sur les Bactéries sulfureuses, établit que plusieurs observations de ZOPF [94] étaient inexactes ; après avoir réussi à distinguer, dans les *Sulfobactéries* de ce dernier, une douzaine de genres et une vingtaine d'espèces, il déclara que jusqu'à présent il n'avait pu réussir à trouver un cas de polymorphisme vrai chez les Bactéries.

En 1889, METCHNIKOFF [53] constata chez le *Spirobacillus Cienkowski* une succession régulière de bactéries ovales, bacilles droits, grands bacilles courbes, spirilles, petits bacilles courbes, filaments minces et spores.

En 1890, BILLET [10], après avoir rappelé que depuis 1863 on avait observé le pléomorphisme chez une soixantaine d'espèces bactériennes, établit chez le *Bacterium Balbianii* et le *Bacterium osteophilum* l'existence d'un cycle évolutif bien défini passant par différentes phases, qu'il dénomme : *état filamenteux*, *état dissocié*, *état zoogléique*, *état enchevêtré*.

« Ces différents états, — dit-il — correspondent à un

« groupement morphologique particulier des éléments
« bactériens, en rapport avec des conditions spéciales du
« milieu ; les unes sont intrinsèques, c'est-à-dire inhéren-
« tes à la nature nutritive du milieu, les autres sont extrin-
« sèques, c'est-à-dire liées à des phénomènes extérieurs
« comme la température, la pression, la quantité plus ou
« moins grande d'oxygène, etc. Voilà pourquoi la succes-
« sion de ces différentes phases n'a rien de fixe ni de
« constant dans le développement de chaque Bactérie ».

Ces observations sont confirmées par ce que nous savons du développement des Algues inférieures qui peuvent présenter des états différents d'une même espèce suivant les conditions extérieures.

WINOGRADSKI [92] n'a pu voir un *Bacillus* se transformer en *Coccus* parce qu'il s'est contenté de cultiver ses Bactéries sur un milieu unique contenant de l'hydrogène sulfuré en dissolution. Au contraire, METCHNIKOFF [53] a vu évoluer sous diverses formes le *Spirillum Cienkowski*, parce qu'il a pris la précaution d'employer des milieux nutritifs variés.

Les expériences de GUIGNARD et CHARRIN [37] ont une très grande importance, car elles sont les premières qui jettent un jour nouveau sur la question et mettent les choses au point.

Quand ils démontrent que l'addition d'antiseptiques au milieu où végète le *Bacillus pyocyaneus* fait varier la forme de cette bactérie, ils concluent en disant : « Au
« point de vue botanique, le polymorphisme du *Bacillus*
« *pyocyaneus* n'ébranle en rien la notion généralement
« admise pour l'espèce. Il n'en doit pas moins attirer de
« plus en plus l'attention sur l'influence des milieux et en
« particulier des antiseptiques et mettre en garde contre
« certaines tendances à trop multiplier les espèces en
« se fondant sur des données morphologiques insuffi-
« santes ».

FLÜGGE [31] est d'accord avec eux : « En réalité, — dit-il, — toutes les modifications morphologiques ne conduisent pas à la confusion des espèces ; au contraire, elles servent avec des moyens d'observation plus parfaits à mieux les caractériser ».

L'unité de l'espèce étant admise, les variations de forme et de résistance vitale produites par les différents agents extérieurs constituent autant de sujets d'étude que l'on rencontre de causes susceptibles de les produire : la lumière, la chaleur, l'électricité, l'agitation, les antiseptiques, seraient autant de titres de chapitre pour un travail d'ordre général sur cette question.

Nous avons borné nos essais à l'étude de l'accoutumance des bactéries aux antiseptiques, en nous limitant à trois espèces bactériennes et à quatre substances chimiques.

L'exposé de ces recherches fera l'objet du chapitre suivant, mais nous allons résumer tout d'abord les principaux résultats déjà publiés sur ce sujet spécial.

PREMIÈRE PARTIE

Historique de l'action des antiseptiques sur les bactéries.

C'est le but essentiellement pratique de la désinfection qui inspira les premiers essais.

En 1881, JALAN DE LA CROIX [43] exposait à l'air deux ballons contenant du bouillon ; l'un pur, l'autre additionné d'antiseptiques. Il jugeait de la valeur de l'antiseptique ajouté par la dose qui suffisait à préserver le liquide de l'envahissement par les bactéries. Le peu de rigueur d'une pareille technique est manifeste.

En 1883, DUCLAUX [28] montre, en effet, que les bouillons ainsi traités peuvent contenir des germes divers, que leur exposition à l'air peut les ensemercer diversement, et il précise les règles à suivre pour obtenir des résultats plus sûrs : il attire notamment l'attention sur la nature du liquide nutritif, sur sa réaction acide ou alcaline, sur l'influence de la température, et pour la première fois, il note très explicitement qu'« on doit tenir compte, dans une « expérience de ce genre, de la communauté d'origine et « de traitement des cultures qui servent au semis ».

Avant lui, BUCHOLTZ [14] avait entrevu l'influence de l'origine de la semence, quand il avait résumé ses expériences, de la façon suivante :

« Je n'affirme rien, mais il est permis de supposer que
« les bactéries provenant de terrains différents peuvent
« montrer des degrés différents de résistance vis-à-vis
« d'un même antiseptique ».

Ce qui avait été entrevu par BUCHOLTZ [14] fut formulé par DUCLAUX [28] en ces termes :

« L'identité des semences ne suffit pas à assurer l'iden-
« tité des colonies, il faut encore l'identité absolue du mi-
« lieu et des conditions extérieures ».

Après avoir démontré que les cultures jeunes et que les cultures vieilles ne donnent pas de différences notables, il préconise l'addition d'antiseptiques aux milieux de culture.
« On a ainsi des générations successives dans les mêmes
« conditions, et en bonne situation pour exercer leurs in-
« fluences héréditaires, si elles en possèdent, ou peuvent
« en acquérir ».

C'est sous sa direction, que KOSSIAKOF [46], en 1887, entreprit les premières expériences, sur l'accoutumance aux antiseptiques. Il chercha si la culture en milieu antiseptique, affaiblit le microbe et modifie sa sensibilité à l'égard du même milieu, ou d'un autre encore plus chargé en antiseptique ; en d'autres termes, si le microbe, issu de la première culture antiseptisée, est plus disposé qu'un microbe non acclimaté à supporter la dose antiseptique, dans laquelle ont vécu ses ascendants, ou une dose supérieure. Ses conclusions sont les suivantes :

1° « Les organismes inférieurs, soumis à l'action d'un antiseptique à doses graduellement croissantes, acquièrent la faculté de vivre et de se développer dans des solutions de ces antiseptiques, qui, agissant sur des organismes non acclimatés, en empêcheraient le développement ».

2° « La force de résistance aux antiseptiques en général ainsi que la faculté d'accommodation sont différentes dans divers organismes ».

La même année, se placent les expériences de GUIGNARD et CHARRIN [37], citées précédemment.

L'année suivante, en 1888, WASSERZUG [86] montra que, sous l'influence de la chaleur et de l'acidité, on peut abolir d'une façon permanente chez le *Micrococcus prodigiosus* la production de la matière colorante dans les milieux pour lesquels cette coloration est normale ; de même pour la forme de la bactérie.

« Il y a d'autres microbes capables d'en faire autant ;
« il est donc non seulement intéressant, mais encore nécessaire de multiplier les exemples en faveur de cette
« thèse ». Et il conclut : « Quand une forme est une fois
« acquise dans un milieu donné, elle arrive à s'y fixer
« d'une façon permanente, et, quand on modifie le milieu,
« la forme ne varie pas, ou très peu. Le retour à la forme
« fixe est d'autant plus rapide que l'action du milieu
« primitif a été plus prolongée. Toutefois, à mesure que
« l'influence du milieu nouveau se prolonge à son tour, le
« changement morphologique s'accroît davantage et se
« transmet de générations en générations jusqu'au moment où le retour à la forme antérieure ne peut plus
« s'effectuer ».

Depuis le travail de WASSERZUG, cette question de la variation morphologique des Bactéries sous l'influence des agents extérieurs n'a guère été reprise. Dans ces derniers temps, PÉJU et RAJAT [61-65-66], dans une très intéressante série d'études sur le polymorphisme des Bactéries, ont montré que les milieux salins provoquent chez ces organismes des variations de forme qu'on n'est pas habitué à trouver dans le vieillissement naturel, puis, poussant plus loin leurs investigations, ils indiquent des variations semblables dans des milieux contenant, non plus des sels minéraux simples, mais des sels organiques à molécules très complexes, telle que l'urée. Ils concluent que les substances chimiques se divisent en trois catégo-

ries, par rapport aux actions qu'elles peuvent exercer sur les Bactéries.

1° Corps produisant un polymorphisme régulier (bichromate de potasse, permanganate, etc.) ;

2° Corps ne produisant aucune modification morphologique (acide phénique, bichlorure de mercure, etc.) ;

3° Corps rendant les cultures impossibles, s'opposant par là même à toute recherche sur le polymorphisme (chlorure de calcium, tanin, sulfate de cuivre, alcool, etc.).

Nous citerons encore, dans ces dernières années, les recherches de WILSON [91], qui constate que l'addition d'urée au milieu de culture fait prendre une forme filamenteuse au *Bacterium coli*, au *Bacillus typhosus* et au *Bacillus pyocyaneus*. Le même corps étant expérimenté par NONNOTTE et SARTORY [76] sur le *Bacillus anthracis*, ces auteurs constatent que la bactériodie y végète avec des formes plus grêles. MAASSEN [49], après GAMALEIA, étudie l'action des sels neutres sur les bactéries et en particulier celle du chlorure de lithium ; il constate une certaine accoutumance.

Tel est l'état actuel de la question. Les bactéries peuvent acquérir de la résistance aux antiseptiques. Pour certains auteurs, les variations morphologiques observées ne sont pas stables et restent fonction du milieu ; pour d'autres, comme WASSERZUG [87], la variation morphologique peut se fixer sans retour possible à la forme type.

Avant d'exposer les recherches personnelles qui font l'objet de ce travail, qu'il nous soit permis de remercier M. le Professeur RADAIS de l'aimable accueil qu'il nous a fait dans son laboratoire ; le bienveillant intérêt qu'il a toujours témoigné à nos recherches nous a permis de profiter de sa grande expérience dans l'interprétation des résultats. Nous adressons l'expression de notre gratitude à M. le Professeur agrégé GUÉGUEN, qui nous a guidé dans

Le choix de notre sujet et nous a initié aux travaux de laboratoire. Nous exprimons notre bien amicale reconnaissance à M. SARTORY, préparateur au laboratoire, dont l'aide journalière nous a été précieuse.

SECONDE PARTIE.

Recherches personnelles.

CHAPITRE PREMIER.

Méthode et Technique.

Comme nous l'avons dit plus haut, KOSSIAKOFF [46] (1887) est le premier qui se soit occupé de l'accoutumance des bactéries aux antiseptiques. Il rechercha si un microbe qui sort d'un milieu antiseptique est plus ou moins disposé à vivre et à se multiplier dans un nouveau milieu identique au premier, qu'un microbe qui sort d'un milieu très favorable. Pour résoudre cette question, il eut recours à la méthode que DUCLAUX [27] a qualifiée de *méthode des milieux croisés*, et qui est la suivante :

« On mettait en train une première expérience, en ensemençant un microbe simultanément dans du bouillon naturel et du bouillon antiseptisé. Généralement, pour de faibles doses d'antiseptique, le développement marchait à peu près parallèlement dans les deux matras, et le lendemain, par exemple, on trouvait deux cultures abondantes. On faisait alors quatreensemencements croisés, c'est-à-dire qu'on ensemençait la culture provenant du bouillon naturel dans un premier matras A contenant de nouveau

du bouillon naturel et dans un autre matras A' contenant du bouillon additionné d'une dose d'antiseptique supérieure à celle qui avait permis la première culture. On transportait de même la semence provenant du bouillon antiseptisé dans un matras B contenant du bouillon naturel et dans un matras B' renfermant le même bouillon que A'. On continuait ainsi.

Les matras A donnaient indéfiniment des semences du même âge provenant du bouillon normal ; les matras B pouvaient être comparés aux matras A et donner des indications sur le degré de vitalité que la semence avait emporté de sa culture dans le milieu antiseptisé. Enfin la comparaison de A' et de B' montrait si les semences avaient puisé dans cette culture une aptitude plus grande ou plus petite à supporter une dose d'antiseptique supérieure. On recommençait avec les matras A et B' ce qu'on avait fait avec les deux premiers et ainsi de suite jusqu'à ce qu'on arrivât à une dose d'antiseptique ne permettant plus aucun développement » (DUCLAUX).

YERSIN [35], en 1888, étudia l'action des antiseptiques et de la chaleur sur le bacille de la tuberculose. Sa méthode est la suivante. Il mélange une faible quantité de culture en bouillon du microbe en question avec une grande quantité de solution antiseptique ; après un séjour plus ou moins prolongé, quelques gouttes de ce mélange sont diluées dans une certaine quantité d'eau stérile puisensemencées dans du bouillon neuf. DE CHRISTMAS [18] adresse à ce procédé la critique suivante : le transport des microbes de la solution antiseptique dans l'eau, le changement brusque de milieu peuvent devenir funestes pour les microorganismes. « On doit craindre,— dit-il,— que les germes affaiblis, non tués par l'antiseptique le soient par l'eau », et il propose de remplacer l'eau par le bouillon.

Laissant de côté la méthode de KOSSIAKOF qui, au dire

même de DUCLAUX, est impossible à mener très loin, et modifiant celle de YERSIN d'après les indications de DE CHRISTMAS, nous avons suivi la méthode que nous allons exposer, méthode qui nous a permis de pousser beaucoup plus loin et dans un autre sens l'étude de cette question.

Dans un tube contenant le milieu nutritif ordinaire nous ensemençons une bactérie. Dès le début du développement, nous transportons avec la boucle de platine, une goutte de ce bouillon dans un tube contenant le milieu additionné de l'antiseptique à étudier. Nous répétons la même opération en ensemencant un troisième tube contenant une dose supérieure d'antiseptique avec le produit fourni par le second tube, nous continuons ainsi jusqu'à ce que la végétation ne se produise plus. A ce moment nous faisons une prise d'essai sur le dernier tube fertile et nous l'ensemencions *sur milieu normal*. Supposons que cette semence, résultant de plusieurs passages en milieux antiseptiques de concentration croissante, possède des caractères qui la distinguent de la race originelle et appelons A cette race qui végète en ce moment sur milieu naturel ; nous l'ensemencions dans de nouveaux tubes contenant des doses croissantes d'antiseptiques à partir de la dose initiale de la première série. Comme dans le premier cas, nous nous arrêtons au dernier tube fertile que nous ensemencions, de même que plus haut, sur milieu normal. Nous avons ainsi une seconde race que nous appelons B, race beaucoup plus accoutumée aux antiseptiques que la race A. Nous continuons de même à former des races C, D, E, jusqu'à ce que nous ne puissions plus obtenir de développement en présence d'une dose d'antiseptique plus élevée.

En opérant de cette manière, nous évitons de transporter l'organisme étudié dans un milieu qui ferait intervenir un facteur étranger dans l'expérience (comme l'a indiqué DE CHRISTMAS) et nous l'allégeons des tubes témoins inutiles de la méthode donnée par KOSSIAKOF [46].

Pour faire les ensemencements, nous avons rejeté le moyen consistant à opérer la prise d'essai avec une pipette effilée ; la quantité de substance puisée est alors considérable, et peut fausser les résultats quand le volume du milieu nutritif n'est pas élevé ; dans le cas présent, nous opérons sur 10 cc. de bouillon. De plus, la stérilisation de ces pipettes est difficile. Nous avons eu recours à la boucle de platine, dont le diamètre est toujours resté le même. La quantité de semence prélevée était donc dans tous les cas identique à elle-même.

Nous avons dosé la quantité d'antiseptique contenu dans chaque tube en suivant les indications de GUÉGUEN [36] : « On commence par préparer, à l'aide d'une balance précise, une solution dans l'eau ou l'alcool à 90° contenant un poids déterminé de la substance à essayer (par exemple 50 grammes d'une solution au centième), les pesées s'effectuent directement dans un flacon à large goulot. On détermine ensuite à l'aide d'un compte-goutte calibré et vérifié, le poids à 15° de cent gouttes de liquide, on calcule le poids d'antiseptique contenu dans une goutte. La solution est stérilisée, s'il y a lieu ».

Dans l'impossibilité de trouver après d'assez longues recherches un milieu chimiquement défini, susceptible de convenir aux différentes espèces microbiennes que nous avions l'intention d'employer, nous nous sommes arrêtés à la formule indiquée par GUÉGUEN [36] :

Peptone.....	20 gr.
Glucose.....	10 —
Chlorure de sodium.....	5 —
Eau distillée	environ 90 cc.

Dissoudre, neutraliser à la phtaléine, ajouter 11 cc. de soude normale et compléter à 1 000 cc., stériliser à 120° pendant 20 minutes.

Dans tout ce qui va suivre, c'est ce bouillon que nous dénommerons *milieu normal*.

Ce liquide nutritif facile à obtenir n'est pas susceptible de compliquer le problème en donnant avec les produits chimiques des réactions secondaires. C'est, en effet là un écueil à éviter, car nous savons que l'influence de telles réactions n'est pas négligeable et BOILLAT [12], entre autres, a établi qu'en présence des substrata nutritifs albumineux, par exemple, le chlorure de zinc est précipité. MIQUEL [57] et BEHRING [8] ont constaté que le sublimé perd de sa puissance antiseptique dans les milieux alcalins où le mercure est précipité à l'état d'oxyde, mais qu'il la conserve en présence du chlorure de sodium et de la peptone ou d'un acide qui l'empêche de se précipiter. D'après GIANLUCCO [35], l'action antiseptique et toxique des métalloïdes se modifie au contact des matières protéiques et albuminoïdes.

Nous avons borné nos recherches à l'étude de l'action de quatre antiseptiques sur trois bactéries. Le *bichlorure de mercure*, le *sulfate de cuivre*, l'*acide salicylique*, la *résorcine*, ont été expérimentés sur le *Bacillus subtilis* (COHN), le *Bacillus pyocyaneus* (GESSARD) et le *Bacillus anthracis* (COHN). Ce sont là des organismes faciles à isoler, dont la morphologie et le cycle de développement sont bien connus. Les antiseptiques auxquels nous nous sommes arrêtés ont une composition chimique nettement définie, sont facilement solubles dans les liquides dont nous nous sommes servis et ne donnent pas de composés insolubles avec le milieu employé.

Nous avons fait des solutions au centième, aqueuses pour la résorcine et le sulfate de cuivre, alcooliques pour l'acide salicylique et le sublimé. On sait d'ailleurs, par les recherches de MINERVINI [54] et de BERTARELLI [9], que les bactéries sont peu sensibles à l'alcool et les quantités de cette substance introduites dans nos vases sont presque négligeables.

Toutes les cultures ont été faites à la température de 37°.

Les observations microscopiques ont été effectuées à l'objectif à immersion 1/15 de STIASSNIE, oculaire compensateur 9, tube tiré. Cette combinaison optique correspond à une amplification de 1320 diamètres.

Comme colorants, nous nous sommes servis en général du violet dahlia, après dessiccation et fixation par la chaleur. Dans certains cas, pour différencier la gaine, par exemple, nous avons suivi la technique préconisée par BILLET [10], qui consiste à faire précéder l'action du colorant de celle de l'acide sulfurique étendu.

CHAPITRE II.

Action de l'Éosine sur les bacilles vivants.

Nous avons eu aussi recours à une méthode de coloration vitale qui facilite grandement les observations morphologiques, en mettant dans le tube en expérience quelques gouttes d'éosine. Nous avons tout d'abord déterminé les limites de l'action antiseptique de ce corps sur les trois bacilles dont nous nous sommes occupés.

C'était là une expérience préparatoire qui devait être précédée elle-même de la fixation des caractères de culture et de forme de ces mêmes bactéries sur le milieu normal que nous avons choisi. Les expériences suivantes résument ces caractères.

Bacillus subtilis. — Le milieu présente, en 24 heures, un trouble généralisé. C'est la phase où les bacilles se dissocient rapidement après la division ; ils sont mobiles et isolés ; en préparation microscopique, ils se colorent fortement et uniformément dans leur masse. Un mince voile apparaît où ces caractères sont encore manifestes, sauf en ce qui concerne la mobilité des éléments. Au second jour, le voile s'accroît se plisse et s'accole à la paroi du tube ; les bacilles se colorent d'une manière moins uniforme, ils restent unis en filaments. Au troisième jour, les plissements du voile se sont accentués ; les filaments allongés et enchevêtrés commencent à se dissocier, un point brillant apparaît dans chaque cellule : la spore se

formée. Dans les vieilles cultures, un dépôt grisâtre apparaît au fond du tube : il est composé de bacilles sporulés chez lesquels la forme de la cellule est plus ou moins altérée.

Bacillus anthracis. — Dès le premier jour, on remarque l'apparition de flocons très petits en suspension dans le liquide.

Les bacilles sont réunis en filaments dans une gaine ; ils se colorent uniformément.

Le second jour, le milieu présente un trouble moins accentué, les bacilles moins uniformément colorables montrent quelques granulations réfringentes, distinctes de la masse protoplasmique.

Au troisième jour, le nombre de ces granulations s'accroît, les filaments se dissocient mettant en liberté les bacilles qui sporulent ; ces spores forment au fond du tube un dépôt blanchâtre vers le quatrième jour.

Bacillus pyocyaneus. — En vingt-quatre heures, on observe un trouble uniforme puis un voile léger. Les bacilles apparaissent nettement séparés et se colorent uniformément. Au second jour, le liquide se teinte légèrement en jaune-vert ; le voile devient plus résistant et s'épaissit, quelques éléments bacillaires renferment des granulations. Le troisième jour, la couleur verte du milieu est plus accentuée, le voile a épaisi, et s'est fortement coloré en vert. Les éléments que l'on rencontre sont en voie de segmentation et donnent des bacilles normaux.

Voici, par comparaison, ce que l'on observe sur le même milieu contenant de l'éosine.

Bacillus subtilis. — Dans un tube contenant 10 gouttes de solution d'éosine, soit 2 gr. 50 pour 1000, ce bacille végète comme dans le milieu normal.

Les granulations protoplasmiques apparaissent colorées en rose. Il s'agit sans doute de corpuscules métachroma-

tiques de réserve. Un ensemencement fait avec ces bacilles dans un second tube contenant une dose double d'éosine, soit 5 grammes pour 1000, donne des résultats identiques, sauf que les granulations sont plus fortement colorées. Le développement se poursuit ainsi jusqu'à la dose de 12 gr. 50 d'éosine pour 1000. A partir de ce moment, le bacille gagne le fond du tube et y forme des zooglées. Ce changement dans le mode de végétation se poursuit jusqu'à la dose de 25 grammes pour 1000 où nous avons arrêté l'essai sans que la forme cellulaire soit elle-même modifiée. Il résulte de ces expériences que la dose de 2 gr. 50 pour 1000, suffisante comme colorant vital, ne gêne en aucune façon le développement du microbe et n'en modifie aucun caractère morphologique.

Bacillus anthracis. — Cette espèce végète aussi bien en milieu éosiné qu'en milieu normal ; toutefois, la culture se fait dès le premier jour au fond du tube, mais les formes observées ne diffèrent en rien des formes habituelles. Les granulations fixent de plus en plus la couleur à mesure que la dose d'éosine augmente. Au titre de 2 gr. 50 pour 1000, la coloration est suffisamment forte pour une bonne observation.

Bacillus pyocyaneus. — Ce bacille, en milieu éosiné, présente uniquement des éléments normaux ; le voile se forme régulièrement 24 heures après le semis et se montre d'autant plus volumineux que le titre de la solution s'élève davantage. A part cette légère différence, à cent gouttes, soit 25 grammes pour 1000, le bacille ne diffère en rien de ceux qui végètent dans les solutions moins fortes.

Toutes ces cultures, ensemencées sur pomme de terre ou sur gélose, après l'action du milieu éosiné, donnent des bacilles qui perdent rapidement leur colorant vital ; mais, autour du point d'inoculation, on constate une diffusion de

la matière colorante qui peut être très étendue: Ainsi, dans le repiquage du *Bacillus subtilis* sur pomme de terre, la couche muqueuse qui se développe, au lieu d'être brunâtre comme dans le cas de végétation du bacille normal, est nettement colorée en rose. Cette coloration accompagne cette couche muqueuse sur les deux faces de la pomme de terre. C'est bien, dans ce cas, le bacille qui a aidé à la diffusion de la matière colorante. Si l'on dépose, en effet, une goutte de solution colorante sur pomme de terre, on constate aussi une diffusion de la couleur, mais beaucoup moins étendue que dans le cas présent et n'atteignant jamais les deux côtés. Il faut sans doute expliquer cette diffusion de la matière colorante par les bacilles vivants, en admettant une sorte d'emménagement de la matière colorante dans la cellule. Au cours de leur multiplication scissipare sur un milieu solide incolore, les bacilles cèdent peu à peu le pigment emmagasiné et provoquent ainsi la coloration du milieu.

Nous n'avons pu nous arrêter plus longtemps à l'étude de ce curieux phénomène qui mériterait peut-être une étude complémentaire plus suivie.

Le *Bacillus pyocyaneus* donne, sur gélose inclinée, une teinte rose qui ne vire pas au violet comme dans le cas d'une végétation normale. Sur pomme de terre, ses colonies ont une couleur rose jaunâtre.

En résumé : l'éosine en solution à 2 gr. 50 pour 1000 peut être introduite dans une culture sans y apporter de modifications sensibles. Son action antiseptique est, à cette dose, à peu près nulle ; elle n'amène aucune modification dans la morphologie des Bactéries. Ainsi que l'ont remarqué PÉJU et RAJAT « sur l'éosine, les cultures de bactéries naissent colorées, fixant énergiquement la matière colorante du milieu sur lequel elles poussent ».

On peut donc préférer l'éosine comme colorant vital, aux autres couleurs dérivées de la houille qui, au moins pour

certaines d'entre elles, d'après les indications de HUGOUNENCQ et ERAUD [42] « paraissent s'opposer au développement des microbes, et atteindre leur virulence ». Cette coloration vitale nous a rendu les plus grands services pour suivre les modifications morphologiques des Bactéries que nous avons étudiées.

Nous donnons, dans les pages suivantes, le résultat de nos observations concernant l'action des divers antiseptiques sur les bactéries.

Il nous faut toutefois préciser les conditions dans lesquelles nous avons entendu apprécier le pouvoir antiseptique des substances étudiées.

On sait que ce pouvoir, qui peut aller jusqu'à causer la mort de la bactérie, en arrête d'abord le développement sans abolir pour cela la vitalité qui peut demeurer à l'état latent pendant un temps variable. Dans ces conditions, la cellule, arrêtée dans son développement, est encore susceptible de le reprendre si les conditions normales de vie lui sont restituées.

MIQUEL [55], l'un des premiers, attire l'attention sur ce mode d'action des antiseptiques et il a distingué la dose antiseptique, qui tue la bactérie, de la *dose infertilisante* qui en suspend seulement les manifestations vitales. Une certaine quantité d'antiseptique ajoutée à un milieu le rendra impropre à la vie bactérienne ; cette quantité représentera la *dose infertilisante* de la substance. MIQUEL [55] a montré que la dose infertilisante d'un corps était d'ailleurs différente suivant que l'addition au milieu nutritif était faite avant l'ensemencement ou après le développement. C'est ainsi qu'il faut une quantité plus forte d'antiseptique pour entraver un développement bactérien déjà en évolution que pour empêcher le début de ce développement.

Ce résultat s'explique par le fait que les nombreuses cellules qui constituent une culture prospère absorbent

une quantité plus notable de la substance que les quelques unités qui constituent un ensemencement à son début.

Quoiqu'il en soit, dans les expériences qui vont suivre, nous ne nous occuperons que de la quantité d'antiseptique qui empêche le développement d'une semence dans un milieu déterminé.

Nous exprimerons cette *Dose infertilisante* par le poids de substance ajoutée à 1 litre du milieu nutritif normal, et nous la désignerons par le symbole DI. Pour fixer les idées, nous dirons que $DI = 1,95$ signifie que la semence bactérienne cesse de pouvoir se développer dans le milieu normal additionné de 1 gr. 95 de l'antiseptique par litre de liqueur.

Dose infertilisante normale. — Une première notion devant servir de point de départ à nos expériences a dû être établie. C'est celle de la *dose infertilisante normale* des quatre antiseptiques étudiés, vis-à-vis de chacune des bactéries mises en expérience. Cette dose est assez constante, elle est exprimée par les chiffres consignés dans le tableau suivant :

	<i>B. pyocyaneus.</i>	<i>B. subtilis.</i>	<i>B. anthracis.</i>
Résorcine.....	3	4,02	0,45
Acide salicylique...	1,02	0,68	0,44
Sulfate de cuivre...	1,71	0,53	0,44
Sublimé.....	0,28	0,07	0,03

Chacun de ces chiffres exprime donc le titre en poids, par litre de substance antiseptique qui empêche le développement. C'est la dose infertilisante de l'antiseptique pour la bactérie normale, non acclimatée aux antiseptiques.

CHAPITRE III.

Bacillus Pyocyaneus.

Action de la résorcine.

La dose infertilisante de la résorcine sur le bacille normal est égale à 3. La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A (1).

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante (DI.) pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action de la résorcine, est égale à 3,45.

Jusqu'à 1,22 le cycle évolutif est normal. A 2,45 une phase filamenteuse apparaît; les filaments présentent à leurs extrémités des formes en massue, la phase dissociée qui succède, montre des éléments deux fois plus longs que les bacilles ordinaires et rapprochés bout à bout par deux ou trois. Au titre 3,40 la phase filamenteuse se dissocie en formes normales (Pl. I, fig. A, B, C, D).

(1) En désignant par race A, race B, race C, etc., les étapes successives que franchit la Bactérie qui s'adapte à des doses croissantes d'antiseptiques, nous adoptons simplement une forme de langage propre à fixer les idées. Il n'entre pas dans notre intention de dire qu'il y a formation de races véritables possédant une certaine stabilité; ces races sont au contraire de durée transitoire et représentent les phases successives de l'adaptation à de nouvelles conditions de vie.

Ces formes donnent avec le temps des filaments beaucoup plus grêles que les premiers et d'où ne dérive pas une phase de dissociation.

Après deux mois, on les retrouve identiques, mais beaucoup plus enchevêtrés. Alors que dans les premiers filaments on distinguait très nettement une gaine enveloppant les bacilles, dans les seconds on ne la retrouve plus ; la coloration du bâtonnet est homogène.

Le développement se modifie progressivement dans toute la série. On note l'apparition du voile après un ou deux jours jusqu'au titre 1,47. Au titre 1,71, il se produit en cinq jours, et à 3,40 en douze jours.

La fonction chromogène se manifeste uniquement par une fluorescence verte du liquide ; elle est régulière jusqu'au titre 1,22. A partir de ce moment, elle s'affaiblit. Au titre 1,71, elle ne se manifeste que le dixième jour. Au titre 3,40 le quinzième jour. Il y a donc affaiblissement du pouvoir chromogène avec l'augmentation du titre en antiseptique.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 3,97.

Sur milieu normal. — Le trouble apparaît en deux jours. Le voile se forme au cinquième et se colore en vert, dans le même temps. La forme des bacilles est normale. Le cycle évolutif comprend une phase filamenteuse donnant une phase de dispersion avec éléments normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 2,45, les formes normales se divisent tout d'abord en cellules courtes figurant des cocci, ceux-ci, au bout de quelques jours, reprennent la forme normale.

D'autre part, on rencontre aussi des filaments qui se dissocient au cinquième jour en formes ordinaires.

A la dose de 3,67 les formes primitives donnent encore

des filaments, mais moins longs qu'au titre précédent ; ils renferment de nombreuses granulations. Le troisième jour, le filament se colore très inégalement, ce qui met en évidence les cloisons de séparation. Au quatrième jour, a lieu la phase de dispersion : les bacilles qui en dérivent présentent des zones fortement colorées. Le septième jour, ces nouveaux bacilles s'allongent en filaments à contenu homogène. Au dixième jour, beaucoup de ces filaments se renflent à leurs extrémités. Cette partie renflée se détache du filament qui s'éclaircit de plus en plus et disparaît. Au treizième jour, les formes sont redevenues isolées et normales (Pl. I, fig. H).

Le développement devient d'autant plus lent que l'on approche de la fin.

Le pigment, qui, au titre 3,67, envahit uniformément le milieu, reste limité au voile dans les autres titres et n'apparaît que par l'agitation.

ÉTUDE DE LA RACE C.

DI. = 3,97.

Sur milieu normal. — Morphologie, développement et fonction chromogène se reproduisent régulièrement.

Sur milieu antiseptisé. — Le cycle morphologique s'accomplit en cinq jours. Au titre 3,43 le bacille donne des formes en cocci, d'où dérive la forme filamenteuse. Au titre 3,92 cette forme procède directement de la forme normale, sans passer par les cocci, mais les filaments sont granuleux et présentent, comme dans la série précédente, leurs extrémités renflées en massue.

ÉTUDE DE LA RACE D.

DI. = 4,98.

Sur milieu normal. — Morphologie, fonction chromogène et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Dans toute la série, l'évolution morphologique s'accomplit en quatre jours. La forme filamenteuse dérivant de la forme normale se termine toujours en massue. Au quatrième jour, la forme ordinaire seule subsiste.

ÉTUDE DES RACES E, F, G.

DI. = 2,98.

Sur milieu normal. — Tout est normal.

Sur milieu antiseptisé. — Le développement commence dans les trois séries au septième et au huitième jours ; il se poursuit en donnant un trouble généralisé et un voile huit ou neuf jours après. La fonction chromogène ne se manifeste que cinq ou six jours après l'apparition du voile. Les variations morphologiques sont nulles ; la forme filamenteuse n'existe plus.

Résumé. — Le pouvoir infertilisant correspondant aux races successivement adaptées est indiqué par les chiffres 3,45, — 4,98 et 2,98. Ce dernier chiffre est inférieur à celui trouvé pour le bacille non acclimaté qui est 3.

Dans les quatre premières séries, la phase filamenteuse donne naissance à des formes coccoides qui constituent la phase de dispersion.

Ces formes en s'allongeant un peu reproduisent la forme normale.

La fonction chromogène, se manifeste par une coloration verte et une fluorescence plus ou moins grande de la culture ; elle existe dans toute la série. Dans tous les cas, il y a formation de pyocyanine.

Action de l'acide salicylique.

La dose infertilisante de l'acide salicylique pour le bacille normal est égale à 1,02.

La bactérie ayant supporté cette dose, reportée en milieu normal, constitue la race A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante (DI.), pour la race A repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action de l'acide salicylique, est égale à 1,20.

Jusqu'au titre 1,02 le cycle morphologique est régulier. La forme normale est suivie en deux ou trois jours de la phase filamenteuse; l'état dissocié qui lui succède reproduit la forme normale. Au titre 0,68 on remarque dans la phase filamenteuse que la plupart des éléments terminaux sont renflés en massue (Pl. I, fig. E). Au titre 0,75 la phase filamenteuse ne présente plus de formes en massue. L'état dissocié qui en dérive montre de nombreuses formes coccoïdes. Ces éléments sont rapprochés les uns des autres par deux ou quatre.

Le développement est régulier jusqu'au titre 0,75. A 1,02 il se fait en six jours; à 1,19 en douze jours. La fonction chromogène est de plus en plus lente à mesure que le titre augmente; à partir de 0,75 le pigment cesse de se former.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 1,44.

Sur milieu normal. — La morphologie, le développement et la fonction chromogène se produisent régulièrement.

Sur milieu antiseptisé. — La morphologie de cette série diffère de la précédente en ce qu'on n'observe plus la forme en cocci. Le bacille donne la phase filamenteuse en deux ou trois jours, suivant le titre du milieu. Le filament reproduit la forme normale.

Le développement est plus lent à mesure que le titre s'élève. Le trouble se produit après le premier jour; le voile n'apparaît, au titre 1,49 qu'après cinq jours, et en dix jours, au titre 1,36. La fonction chromogène suit la même progression, et ne disparaît totalement qu'au titre le plus élevé.

ÉTUDE DES RACES C, D, E, F, G, H, I, J.

Race C.	DI. = 1,44	la fonction chromogène s'arrête à	1,49
— D.	DI. = 1,44	—	1,36
— E.	DI. = 1,71	—	1,53
— F.	DI. = 0,69	—	0,34
— G.	DI. = 0,69	—	0,34
— H.	DI. = 0,69	—	0,34
— I.	DI. = 0,69	—	0,40
— J.	DI. = 0,69	—	0,68

Transplanté sur milieu ordinaire, le bacille repousse en donnant le pigment vert.

Le cycle morphologique est normal dans toutes les séries.

Résumé. — Les chiffres indiquant les limites d'accoutumance sont peu variables. Le titre 1,44 se maintient dans les trois premières séries, pour s'élever dans la cinquième à 1,71. Il retourne ensuite à 0,69 et s'y maintient. A noter que le chiffre 0,69, indiquant le pouvoir infertili-sant après acclimation, est inférieur à celui du bacille non acclimaté qui est 1,02.

Les formes normales s'observent dans les deux premières séries seulement.

Ce sont des massues pour la phase filamenteuse de la première série, et des formes coccoïdes pour la phase dispersée de la seconde.

Le développement se ralentit aux titres élevés.

La fonction chromogène se manifeste un ou deux jours après l'apparition du voile. Dans toutes les séries, elle est abolie bien avant l'arrêt de multiplication, sauf dans la dernière, où elle persiste jusqu'à la fin. Dans tous les cas, elle réapparaît à la suite du report sur milieu ordinaire.

Action du sulfate de cuivre.

La dose infertilisante du sulfate de cuivre pour le bacille normal est égale à 1,71.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action du sulfate de cuivre, est égale à 2,01.

Au titre 1,47 le bacille, qui présentait dans les tubes précédents l'aspect normal, tend à prendre la forme filamenteuse ; les bâtonnets sont séparés par des cloisons très rapprochées. On a ainsi des éléments juxtaposés presque carrés (Pl. I, fig. F). Au bout de deux ou trois jours, les angles s'émousent et on se trouve en présence de la forme coccoïde ; les éléments sont alors dispersés, la culture se manifeste en un ou deux jours. Au titre 1,95 le trouble se produit au quatrième jour. La formation du voile est fonction du développement ; elle a lieu quatre jours après le trouble, à toutes les concentrations de la série,

sauf au titre 1,95 où elle exige huit jours.

La fonction chromogène est régulière dans tous les tubes. Le milieu prend une teinte vert-clair qui se fonce rapidement et devient couleur feuille morte en vieillissant.

ÉTUDE DES RACES B, C, D.

DI. = 2,27.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Le cycle des variations morphologiques est très restreint; dans toutes ces séries, quelques bacilles s'allongent de la moitié de leur longueur, et se divisent pour redonner la forme normale. Au titre 1,60 la phase filamenteuse montre des éléments associés en chaînettes qui ne tardent pas à se dissocier. L'apparition du trouble, celle du voile et la fonction chromogène se font irrégulièrement. -

ÉTUDE DES RACES E, F, G, H.

Race E. DI. = 2,01

— F. DI. = 1,48

— G. DI. = 1,48

— H. DI. = 1,48

Dans ces quatre séries, le réensemencement sur milieu simple reproduit la forme normale.

Le développement est régulier.

Sur milieu antiseptisé. — La forme ne varie pas. Le développement et la fonction chromogène ralentis dans les séries F et G, redeviennent normaux dans la dernière série.

Résumé. — Le chiffre 1,71 représentant la dose infertilisante du sulfate de cuivre sur le bacille pyocyanique s'élève par l'accoutumance à 2,01 et 2,27 titre maximum. Il redescend ensuite à 1,48 et se maintient constant dans les trois dernières séries. Il est à remarquer que ce dernier chiffre est inférieur pour le bacille acclimaté à celui du bacille qui ne l'est pas.

Les formes n'ont guère varié, l'aspect normal étant la règle. Les bacilles sont plus ou moins allongés et plus ou moins granuleux. La seule forme nouvelle s'observe dans la première série, elle consiste en filaments dont les cellules à peu près carrées produisent par dispersion les formes (Pl. I, fig. F) que GUIGNARD et CHARRIN considèrent comme des formes de conservation ayant la valeur d'arthrospores. Nous verrons plus loin que nos expériences sur leur résistance confirment cette manière de voir.

En général, le début d'apparition de la végétation est lent, à mesure que l'on approche de la dose limite. Cependant dans les dernières séries, il redevient normal ; la fonction chromogène suit le développement.

Action du sublimé.

La dose infertilisante du sublimé pour le bacille non acclimaté est 0,28. — La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race adaptée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

Cette race, repiquée en milieu normal et soumise ensuite aux doses croissantes d'antiseptique arrête son développement pour $D. I. = 0,36$.

Les variations morphologiques sont peu considérables, la forme normale dissociée primaire donne naissance à la phase filamenteuse d'où dérive la forme normale secondaire. L'apparition du trouble est régulière dans toute la série, la fonction chromogène se manifeste à toutes les concentrations, sauf à la plus élevée, par la production du pigment vert fluorescent qu'accompagne la pyocyanine.

ÉTUDE DES RACES B, C, D, E, F, G, H.

Race B.	DI. = 0,64
— C.	DI. = 0,64
— D.	DI. = 0,93
— E.	DI. = 0,51
— F.	DI. = 0,51
— G.	DI. = 0,18
— H.	DI. = 0,18

Dans toutes ces séries, chaque race acclimatée repiquée donne un développement normal. Il en est de même pour la fonction chromogène. Dans les milieux additionnés de sublimé, les formes sont semblables à celles qu'on observe sur milieu normal, la fonction chromogène suit le développement, mais l'activité est néanmoins diminuée dans les races E et F.

Résumé. — Le titre de la dose infertilisante s'élève de 0,64 à 0,93 pour retomber à 0,18, chiffre inférieur à celui de la dose infertilisante pour le bacille non acclimaté.

Les formes anormales n'existent pas. La fonction chromogène est gênée dans toutes les séries au terme ultime. Dans la première on observe sa disparition à la concentration indiquée (0,64). Elle réapparaît dans toutes les autres. Tous les repiquages sur milieu normal donnent des bacilles normaux en tous points.

CHAPITRE IV.

Bacillus subtilis.

Action de la résorcine

La dose infertilisante de la résorcine sur le bacille non acclimaté est égale à 4,02. La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race adaptée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante de la race A repiquée sur milieu normal puis soumise de nouveau à l'action de doses croissantes de résorcine est égale à 4,02.

Les variations morphologiques se réduisent à un allongement du bacille qui prend ainsi l'aspect filamenteux ; par dispersion, les éléments redeviennent normaux et sporulent.

Le développement complet se fait en trois jours à partir du commencement du trouble ; le voile apparaît dans toute la série à époques à peu près égales. A partir du titre 3,92, il est de plus en plus fragile.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 5,61.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Même cycle morphologique que dans la série précédente, mais les filaments se terminent en massue allongée ou en sphères (Pl. II, fig. D).

Au titre 5,58 le trouble apparaît au quatorzième jour, alors qu'à tous les autres titres il se produit au sixième. La formation du voile présente la même particularité, apparaissant trois jours après le trouble dans toute la série; on ne l'observe qu'au sixième à la concentration 5,58.

ÉTUDE DE LA RACE C.

DI. = 5,40.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 5,35, l'apparition du trouble a lieu au sixième jour. Il est uniforme et quelques flocons blancs apparaissent en suspension dans le liquide. Absence complète de voile.

La phase filamenteuse se produit dès le second jour de l'apparition du trouble. Les filaments très long (400 à 500 μ) constituent les flocons tenus en suspension dans le milieu. On trouve dans ces filaments des éléments de formes variées (Pl. II, fig. A, *a*, *b*, *c*, *d*, *e*). Ce sont des bacilles normaux, des bacilles longs, quelques-uns sont plus larges, d'autres étant aussi longs que larges affectent la forme de gros cocci, on en trouve aussi de très petits. Il existe enfin des formes irrégulières et asymétriques. Une même gaine filamenteuse contient ces différents éléments. On pourrait croire qu'en ce moment on se trouve en présence de formes de souffrance n'ayant plus aucune vitalité. Cependant, si on examine quatre ou cinq jours plus tard les mêmes filaments, on les trouve fragmentés et contenant de nombreuses spores.

ÉTUDE DE LA RACE D.

DI. = 6,41.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — L'étude morphologique au même titre que dans la série C donne des résultats tout à fait différents. Les formes normales produisent rapidement la phase filamenteuse avec allongement des éléments. On observe alors quelques bacilles terminés en massues plus ou moins allongées, mais le plus grand nombre est normal et donne naissance aux formes ordinaires.

Au titre 6,37 le cycle morphologique est redevenu normal.

A ces deux titres, pas de formation de voile, mais trouble uniforme du bouillon.

ÉTUDE DE LA RACE E.

DI. = 5,93.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 5,88 la morphologie est comparable à celle de même titre de la série précédente. L'exagération de la forme en massue est très caractérisée et l'on trouve des filaments terminés à leurs deux extrémités par des renflements piriformes au-delà desquels la gaine se continue pour former une sorte de flagellum (Pl. III, fig. C, b, c, d).

ÉTUDE DES RACES F ET G.

Race F. DI. = 5,40.

— G. DI. = 3,97.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre ultime, le développement se fait en huit jours. La forme normale donne en deux jours la phase filamenteuse qui restitue cette même forme. Sporulation normale.

Le voile ne se produit pas dans la dernière série, il met douze jours à paraître dans l'avant-dernière.

Résumé. — Les limites de la dose infertilisante sont successivement indiquées par les chiffres 4,92, — 5,61, — 6,41, — 5,93, — 5,40, — 3,97. Ce dernier, inférieur à celui représentant la dose infertilisante pour le bacille non acclimaté.

La première série ne contient pas de formes anormales. Dans la deuxième, apparition de massues terminant les filaments. Dans la troisième, aspects très anormaux et très variés; on rencontre le long d'une même gaine: cocci gros et petits, bacilles courts et larges, formes irrégulières. Dans les deux derniers, le cycle morphologique et les éléments sont redevenus normaux.

Dans tous les milieux normaux, le développement et la morphologie sont normaux. Cependant le voile ne se produit plus dans les deux dernières séries.

Action de l'acide salicylique.

Le pouvoir infertilisant de l'acide salicylique sur le bacille non acclimaté est égal à 0,68.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race adaptée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise ensuite à l'action de doses croissantes d'acide salicylique est égale à 1,04.

La forme primitive s'allonge rapidement et donne, en cinq ou six jours, au titre 0,85, naissance à la phase filamenteuse. Les filaments se divisent en donnant des bacilles longs qui sporulent le dixième jour. Le trouble apparaît après vingt-quatre heures, le voile après deux jours. Au titre 1,02, la formation du voile demande cinq jours.

ÉTUDE DE LA RACE B.

$$DI = 1,20.$$

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 1,02 allongement rapide du bacille, parmi de nombreuses formes normales, quelques éléments renflés en massue, d'autres coniques (Pl. II, B). Ces derniers paraissent constitués par un corps bacillaire unique, colorable complètement et possédant à l'extrémité opposée au renflement une terminaison non colorable, mais visible par réfringence, et paraissant formée par la gaine. La sporulation se fait normalement.

Le développement est régulier et le voile se forme à tous les degrés au deuxième jour du semis. Au titre 1,19 il ne paraît plus.

ÉTUDE DE LA RACE C.

DI = 1,71.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Examen du titre 0,68. La forme ordinaire donne, en deux jours, la phase filamenteuse, qui contient de nombreux éléments en massue.

Dans ce cas la gaine renferme des bacilles normaux, seul celui qui termine le filament est beaucoup plus court que les autres, il est renflé à la base et terminé en pointe. Au cinquième jour, apparaît la phase dispersée reproduisant des bacilles ordinaires. La sporulation se fait normalement.

Dans les autres tubes de la série, le développement et la morphologie sont identiques.

ÉTUDE DES RACES D, E, F, G.

Race D. DI. = 1,05

— E. DI. = 1,44

— F. DI. = 1,44

— G. DI. = 1,44

Dans ces quatre séries, le semis sur *milieu normal* donne les bacilles et le développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Il en est de même que sur milieu simple. On n'observe plus de formes en massue. Le voile n'apparaît pas.

ÉTUDE DE LA RACE H.

DI. = 1,04.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — La forme normale donne naissance à la phase filamenteuse en trois jours. Les bacilles contenus dans les filaments s'allongent et au sixième jour donnent la phase dispersée. La sporulation se fait au dixième jour. Le voile se forme lentement dans toute la série, il est très fragile.

Résumé. — Les chiffres indiquant la dose infertilisante montent de 1,04 à 1,44 pour retomber finalement à 1,04. Les formes anormales se montrent dans la deuxième et la troisième séries, elles sont constituées par des éléments en massue et en cônes. Dans les séries suivantes, le cycle morphologique redevient ordinaire et ne présente aucune forme nouvelle. Le développement se fait régulièrement dans les différentes séries, sauf aux titres correspondant à l'arrêt de la végétation. La différence est surtout remarquable dans les deux séries contenant des formes anormales. Le voile qui se produit dans les deux premières cesse au terme ultime de la seconde, et ne réapparaît qu'à la dernière. Les semis sur milieux normaux reproduisent les formes et le développement habituels.

Action du sulfate de cuivre.

La dose infertilisante du sulfate de cuivre pour le *B. subtilis* normal est égale à 0,53.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée sur milieu normal et soumise de nouveau à l'action de doses croissantes de sulfate de cuivre est égale à 0,63.

Au titre 0,58 le bacille normal prend, le deuxième jour après la pousse, la forme filamenteuse constituée par des éléments dont la longueur est supérieure du double à celle des formes ordinaires. Le cinquième jour, dispersion des éléments qui se sont cloisonnés dans l'intervalle. Formation habituelle de la spore, puis destruction des bacilles.

Développement normal. Trouble apparaissant au bout de quelques heures, voile au bout d'une journée.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 0,62.

Sur milieu normal. — La morphologie et le développement sont normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 0,29 même morphologie, mais le développement est retardé et ne commence qu'au cinquième jour.

Au titre 0,58 les filaments sont beaucoup plus longs que dans la série précédente.

Au douzième jour, se produit la phase de dispersion qui donne naissance à des formes variées, la plupart des éléments sont courbés en arc de cercle, d'autres ont une extrémité renflée en massue, d'autres enfin affectent la forme d'une larme (Pl. III, fig. A).

Le développement commence le cinquième jour.

ÉTUDE DE LA RACE C.

DI. = 0,42.

Sur milieu normal. — Le développement est normal; on observe cependant, le cinquième jour, quelques formes en massue.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 0,37 le développement commence le neuvième jour; pas de formation de

voile. Les formes ne sont plus rectilignes ; toutes sont courbes ; quelques-unes, très asymétriques, ont l'aspect d'un bacille bosselé, renflé et grossi du double ou du triple (Pl. III, fig. B). La phase filamenteuse à laquelle ils donnent naissance reproduit la forme normale, mais beaucoup plus grêle. La sporulation est normale.

ÉTUDE DE LA RACE D.

DI. = 0,53.

Sur milieu normal. — Développement retardé d'un jour. Morphologie normale.

Sur milieu antiseptisé. — Le développement commence le sixième jour ; pas de formation de voile. Le liquide reste clair et tient en suspension des flocons constitués par des pelotons filamenteux très longs (jusqu'à 300 à 400 μ), qui prennent uniformément les colorants et reproduisent en une semaine la forme normale grêle et granuleuse (Pl. II, fig. C).

ÉTUDE DES RACES E, F, G.

DI. = 0,74

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — On n'observe plus les longs filaments qui caractérisaient la série précédente. La forme filamenteuse est redevenue normale et la phase dispersée est analogue à celles des premières séries.

Le développement est redevenu normal.

ÉTUDE DE LA RACE H.

DI. = 0,74

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — L'examen du titre 0,68 montre la forme ordinaire donnant en deux jours la phase filamenteuse, à longs éléments, la phase de dispersion montre des bacilles normaux, analogues à ceux de la première série. L'évolution est complète en cinq jours.

Résumé. — Une première limite de développement apparaît pour les premières races adaptées; la dose infertilisante tombe ensuite pour se relever au chiffre 0,74 légèrement supérieur à la dose infertilisante active sur la première race.

Des formes anormales s'observent dans les deuxième, troisième et quatrième séries; elles sont représentées, dans les phases filamenteuses, par des pelotons très longs qui restent en suspension dans le milieu sous forme floconneuse. Dans la phase dispersée de la série B, il existe des formes anormales en bouteilles.

Dans les dernières séries, les variations se bornent à des écarts peu importants dans la longueur et la largeur des bacilles.

Le développement se ralentit dans les séries présentant des formes anormales.

Le voile disparaît dans les derniers tubes de chaque série.

Action du sublimé.

La dose infertilisante du sublimé pour le *Bacillus subtilis* est égale à 0,07.

La bactérie ayant supporté cette dose devient la race A acclimatée.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action de doses croissantes de sublimé est 0,11.

La forme normale donne en deux jours la phase filamenteuse ; les filaments très longs, enchevêtrés, se colorent uniformément ; la phase de dispersion donne, au titre 0,03, des formes secondaires normales ; au titre 0,07 des formes secondaires plus courtes qu'au titre précédent. A 0,10 les filaments sont granuleux et les formes qui en dérivent sont aussi beaucoup plus granuleuses que les formes équivalentes des autres titres.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 0,22.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 0,10 le développement se fait en quatre jours. Les bacilles qui contenaient, au même titre, de nombreuses granulations dans la série précédente, sont ici normaux. Au titre 0,18 le développement se fait en quatre jours ; les éléments composant la phase de dispersion sont moitié plus petits que les éléments normaux ; chez quelques-uns, la longueur et la largeur étant égales, on a la forme en cocci assez gros (Pl. III, fig. D). Au titre 0,20 les cocci disparaissent.

Dans toute cette série, le développement a lieu en quatre ours, avec voile très fragile.

ÉTUDE DES RACES C, D, E, F, G, H.

Race C. D.I. = 0,30.

— D. D.I. = 0,44.

— E. D.I. = 0,73.

— F. D.I. = 0,93.

— G. D.I. = 0,59.

— H. D.I. = 0,05.

Sur milieu normal aussi bien que *sur milieu antiseptisé*, les formes et le développement ne présentent rien de particulier.

Résumé. — La limite de la dose infertilisante commence au titre 0,11 pour s'élever graduellement jusqu'à 0,93 et redescendre à 0,05, c'est-à-dire au-dessous du titre infertilisant pour le bacille non acclimaté. Les formes anormales ne se montrent que dans les deux séries du début, à partir de la quatrième.

La forme filamenteuse redonne le bacille normal, légèrement courbe dans cette série, droit dans toutes les autres.

Le développement n'offre rien de particulier, à part un ralentissement dans la formation du voile, quand on atteint les titres les plus élevés ; la production de ce voile s'observe, d'ailleurs, à tous les degrés de dilution de l'antiseptique.

CHAPITRE V.

Bacillus anthracis.

Action de la résorcine.

La dose infertilisante de la résorcine pour le bacille normal est égal à 0,45. La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action de la résorcine est de 0,53.

L'étude des variations morphologiques a été faite au titre 0,47. Le développement se produit, comme dans les titres précédents dès le premier jour ; au troisième, apparition de la forme filamenteuse. Les filaments sont très longs, se colorent uniformément, leur épaisseur est très irrégulière ; renflés en certaines parties, ils sont filiformes dans d'autres, leurs extrémités pouvant se terminer en pointe ou en massue.

La phase de dispersion apparaît au quatrième jour. L'extrémité du filament se recourbe (Pl. III, fig. B'b) et les jours suivants se sépare, elle entraîne souvent avec elle une partie de la gaine filamenteuse, qui apparaît plus

claire et légèrement granuleuse. Cette enveloppe ne tarde pas à disparaître, et la forme qui subsiste est le bacille recourbé. Les extrémités restées libres du filament se détachent de la même façon, et en huit jours on ne trouve plus dans le milieu que des bacilles recourbés, mêlés à des débris filamenteux renfermant de nombreuses granulations.

Ces formes courbes examinées de nouveau au bout de deux mois montrent un épaississement des extrémités du bacille ; chez quelques-unes, ces extrémités arrivent à se toucher de manière à former un anneau presque complet (Pl. III, fig. B', c).

La sporulation se fait normalement.

La culture a lieu au fond du tube, le liquide surnageant reste clair.

ÉTUDE DE LA RACE B.

DI. = 0,31.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — A tous les titres, la morphologie est la même que dans la première série. La forme filamenteuse apparaît un jour après le semis ; le sixième jour, la phase dispersée montre des éléments courbes.

La sporulation est normale.

Les cultures sur milieu antiseptisé poussent au fond du tube.

ÉTUDE DE LA RACE C.

DI. = 0,53

Sur milieu normal. — Pousse en un jour avec formes normales.

Sur milieu antiseptisé. — La forme filamenteuse apparaît dès le premier jour, mais la phase de dispersion diffère légèrement de celle observée dans les séries précédentes. Les éléments droits au lieu de se séparer de la gaine y demeurent enfermés ; entre chacun d'eux, le filament s'amincit et s'étire de telle façon que la rigidité que l'on observait dans la forme filamenteuse n'existe plus (Pl. III, fig. A', *a, b, c*). On arrive, ainsi, à la forme en hélice (Pl. III, fig. A', *d, c*).

ÉTUDE DE LA RACE D

$$DI. = 0,74$$

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — La morphologie est comparable à celle de C, mais la forme en hélice n'est pas le terme ultime de la variation.

Elle se dissocie pour donner des éléments en bâtonnets plus allongés et plus grêles que les bacilles normaux. Ces éléments présentent un protoplasma très granuleux.

Développement au fond du tube.

ÉTUDE DE LA RACE E

$$DI. = 0,79$$

Pousse en un jour et régulièrement *sur milieu normal* en donnant un trouble uniforme.

Sur milieu antiseptisé. — Culture au fond du tube ; morphologie analogue à celle des séries précédentes, avec réapparition de la forme en hélice, qu'on trouve à toutes les dilutions d'antiseptique.

ÉTUDE DES RACES F, G, H

Race F. DI. = 0,63

— G. DI. = 0,63

— H. DI. = 0,53

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 0,58, le bacille isolé présente une phase filamenteuse différente de la forme normale; la gaine est plus visible, le bacille est notablement plus petit; dans certains filaments, on trouve des bacilles isodiamétriques, véritables cocci. La phase de dispersion restitue des bacilles à formes allongées et grèles.

Résumé. — Les variations morphologiques sont peu considérables, la phase filamenteuse ne produit pas de formes anormales. Dans la phase de dispersion, on observe en C et F, c'est-à-dire au milieu et à la fin de l'expérience des formes courbes et en gros cocci. Le développement se fait au fond du tube toutes les fois que la culture a lieu sur milieu antiseptisé. Sur milieu normal, elle produit un trouble dans tout le liquide.

Action de l'acide salicylique.

La dose infertilisante de l'acide salicylique pour le bacille normal est égale à 0,44.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action de l'acide salicylique est égale à 1,02.

Le bacille devient filamenteux en 24 heures. Au bout de 48 heures apparaît, au titre 0,34, la phase de dispersion et au troisième jour on constate la courbure des éléments. A partir du titre 0,40, la forme filamenteuse apparaît en deux ou trois jours, elle donne naissance à la forme en hélice qu'on ne retrouve pas dans les séries suivantes, même après un mois.

Le développement se fait au fond du tube.

ÉTUDE DE LA RACE B.

$$DI. = 0,74.$$

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Au titre 0,73 la forme filamenteuse n'apparaît qu'au troisième jour, la phase de dispersion au quatrième; les seules formes de résistance que l'on rencontre à la fin de la série sont des formes courbes. Le pouvoir sporogène est aboli.

ÉTUDE DES RACES C, D, E, F, G.

Race C. DI. = 0,74.

— D. DI. = 1,00.

— E. DI. = 1,00.

— F. DI. = 1,00.

— G. DI. = 1,00.

Sur milieu normal. — Forme et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — Dans les séries C, D, E, la forme filamenteuse n'apparaît qu'au troisième jour. Dans les autres, elle se forme en vingt-quatre heures. Quand l'apparition de cette forme est retardée, les éléments qui la constituent sont en général plus courts et plus grêles que d'ordinaire.

Résumé. — Le bacille supporte dans la première série la dose maxima de 1,02 ; dans les deux séries suivantes, le chiffre est abaissé à 0,74. Il remonte dans les autres à 1,00. On remarque, dans les deux séries moins résistantes, un ralentissement dans le développement général de la bactérie. Les variations morphologiques n'offrent aucune particularité intéressante. Le pouvoir sporogène est aboli à partir de la seconde série, mais réapparaît dans les repiquages sur milieu ordinaire.

Action du sulfate de cuivre.

La dose infertilisante du sulfate de cuivre sur le bacille normal est égale à 0,44.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action du sulfate de cuivre, est égale à 0,53.

Au titre 0,14, après deux jours, la forme filamenteuse à bacilles nettement distincts donne des filaments longs ne possédant plus d'espaces clairs. Au troisième jour, leur extrémité se recourbe, se détache et donne des éléments en arc de cercle.

Au titre 0,24, même mode de développement.

Aux titres 0,29 et 0,39, l'extrémité filamenteuse, avant de donner l'arc de cercle, se termine par un article conique.

Au titre 0,49, les formes en arc apparaissent le troisième jour, et leur nombre augmente les jours suivants. Les éléments restés normaux contiennent un protoplasma sans granulations, prennent difficilement les colorants et forment régulièrement leur spore.

Le trouble apparaît en 24 heures, jusqu'au titre 0,49 ; il se manifeste ensuite en 48 heures. Le développement s'opère au fond du tube.

ÉTUDE DES RACES B, C, D.

Race B. DI. = 0,63.

— C. DI. = 0,63.

— D. DI. = 0,63.

Sur milieu normal. — Morphologie et développement normaux.

Sur milieu antiseptisé. — La morphologie ne présente pas de différence avec celle de la première série. Le développement seul est retardé.

Sur B, il se fait en trois jours ; sur C, en cinq.

ÉTUDE DES RACES E, F, G, H, I.

Race E. DI. = 0,79.

— F. DI. = 0,79.

— G. DI. = 0,26.

— H. DI. = 0,05.

— I. DI. moins de 0,05.

Dans toutes les séries, le développement se produit le quatrième jour. La morphologie est analogue à celle des autres séries.

Résumé. — La dose infertilisante primitive 0,53 monte dès la seconde série à 0,63, se maintient à ce chiffre dans les deux séries suivantes, et atteint dans les deux autres 0,79. Elle redescend ensuite à 0,26 et 0,05. *A partir de ce point, le bacille ne végète plus dans un milieu contenant la moindre dose d'antiseptique.*

Les variations morphologiques sont restreintes et ne présentent que des formes de vieillissement ; la seule forme anormale est celle qui est représentée par un bacille *conique*, c'est-à-dire que l'élément terminal d'un filament présente à la partie inférieure une section droite, tandis que la partie opposée est en pointe.

Le développement qui se fait en un ou deux jours dans les premières séries, en demande quatre et cinq dans les dernières.

Dans tous les milieux simples, la culture présente un trouble généralisé dans tout le tube. Dans les milieux antiseptisés, elle se fait au fond du vase, le liquide surnageant demeure clair.

Action du sublimé.

La dose infertilisante du sublimé sur le bacille normal est égale à 0,03.

La bactérie ayant supporté cette dose constitue la race acclimatée A.

ÉTUDE DE LA RACE A.

La dose infertilisante pour la race A, repiquée en milieu normal et soumise de nouveau à l'action du sublimé, est égale à 0,03.

Le bacille donne en vingt-quatre heures la forme fila-

menteuse, en 48 heures, la phase de dispersion survient. On ne constate pas de sporulation.

Au bout de cinq ou six jours, on trouve des formes courbes et en hélice.

Le développement se fait au fond du tube.

ÉTUDE DES RACES B, C, D, E, F.

DI. = 0,03,

Sur milieu normal. — Morphologie et développement analogues à ceux de la série précédente.

Sur milieu antiseptisé. — Le développement commence au quatrième et au cinquième jour.

La phase filamenteuse montre des bacilles grêles, filiformes; quelques-uns sont sinueux, très minces et possèdent une gaine très développée. La phase dispersée qui suit, montre, comme dans les premières séries, des formes courbes et en hélice.

Le développement en milieu normal est généralisé dans tout le tube; en milieu antiseptisé, il se produit dans le fond.

Résumé. — *Il n'existe aucune accoutumance appréciable, le bacille ne végétant pas au-delà de 0,03.* Les variations morphologiques n'offrent aucune particularité digne de remarque. Le pouvoir sporogène est suspendu dès le premier contact avec l'antiseptique. Il reparait dans tous les repiquages sur milieu simple.

CHAPITRE VI.

Résumé des expériences sur l'accoutumance aux antiseptiques.

Les expériences qui précèdent peuvent recevoir une interprétation. On peut d'abord condenser les chiffres sous la forme d'un tableau synoptique qui permettra d'embrasser d'un coup d'œil les différentes valeurs de la dose infertilisante de chaque antiseptique pour chacune des races provisoires de bactéries progressivement adaptées.

		A	B	C	D	E	F	G	H
<i>Bacillus subtilis</i>	Résorcine	4.92	5.61	5.40	6.41	5.93	5.40	3.97	
	Acide salicylique	1.04	1.20	1.71	2.05	1.44	1.44	1.44	1.04
	Sulfate de cuivre	0.63	0.63	0.42	0.53	0.74	0.74	0.74	0.74
	Sublimé.....	0.11	0.22	0.30	0.44	0.73	0.93	0.59	0.05
<i>Bacillus anthracis</i>	Résorcine.....	0.53	0.31	0.53	0.74	0.79	0.63	0.63	0.53
	Acide salicylique	1.02	0.74	0.74	1.00	1 » 1 » 1 »			
	Sulfate de cuivre	0.53	0.63	0.63	0.63	0.79	0.79	0.25	0.05
	Sublimé.....	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	—	
<i>Bacillus pyocyaneus</i>	Résorcine.....	3.45	3.97	3.97	4.98	2.98	2.98	2.98	
	Acide salicylique	1.20	1.44	1.44	1.44	1.71	0.69	0.69	0.69
	Sulfate de cuivre	2.01	2.27	2.27	2.27	2.01	1.48	1.48	1.48
	Sublimé.....	0.36	0.64	0.64	0.93	0.51	0.51	0.18	0.18

Il est plus instructif encore de tracer les graphiques correspondants pour comparer entre elles, les courbes obtenues. C'est ce que nous avons réalisé dans les tableaux I, II, III, qui, pour chacune des trois espèces de bactéries mises en expérience montrent simultanément les courbes représentatives des valeurs que prend la dose infertilisante des antiseptiques employés.

Comme cette dose infertilisante peut être regardée comme une mesure de l'accoutumance de la bactérie aux antiseptiques, la courbe figure les phases parcourues par l'adaptation. La lecture en est facile : la colonne des chiffres exprime le titre du milieu en grammes d'antiseptique par litre, les lettres indiquent les races successives, la lettre N désignant la race normale.

C'est avec le *Bacillus pyocyaneus* que nous observons la plus grande constance dans les phénomènes d'accoutumance ; le parallélisme des courbes se maintient pour chaque antiseptique avec la régularité compatible avec les inévitables erreurs d'expérimentation. On voit que la bactérie en s'adaptant progressivement à des doses nocives de plus en plus élevées atteint un degré de résistance qu'elle ne peut dépasser et qui est suivi d'une chute assez rapide. La bactérie perd la faculté de résistance qu'elle avait acquise et paraît même acquérir une sensibilité plus grande que celle qui caractérisait son état initial.

On voit en effet que la courbe d'adaptation tombe, après la régression, au-dessous du niveau de la première dose infertilisante. Toutefois la différence est faible, et les deux niveaux tendent à se confondre. On peut exprimer les faits qui précèdent en disant que l'accoutumance a été temporaire et qu'au bout d'un certain temps la bactérie tend à reprendre sa résistance normale.

Cette constatation est intéressante ; elle montre que la bactérie, tout en manifestant une certaine plasticité

d'adaptation ne saurait franchir une limite déterminée. *C'est un phénomène très net de résistance spécifique à la variation.*

Les courbes d'accoutumance du *Bacillus subtilis* n'offrent pas la régularité des précédentes. Il en est de même pour le *Bacillus anthracis* pour lequel la dose infertilisante maxima ne se fixe qu'après des fluctuations assez complexes.

Nous verrons plus loin comment on peut tenter d'expliquer ces irrégularités. Il apparaît néanmoins que le phénomène de l'accoutumance obéit à la même loi générale que nous avons énoncée à propos du *Bacillus pyocyaneus*, en ce sens qu'une régression plus ou moins accentuée se manifeste toujours après le maximum de résistance.

Ici encore, le caractère physiologique acquis disparaît pour un retour au type normal.

Enfin ce retour au type normal est toujours la règle quand on transporte les bactéries du milieu nocif en milieu normal, quel que soit le degré d'adaptation qu'elles aient atteint. On peut donc dire qu'en aucun cas l'accoutumance aux antiseptiques ne se maintient ; elle est toujours temporaire.

L'examen des courbes des tableaux I, II et III, appelle d'autres observations. Comme nous l'avons fait remarquer plus haut, la régression de l'accoutumance aux antiseptiques se traduit par une sensibilité plus grande de la bactérie.

Nous avons mis en regard, dans le tableau ci-dessous, les doses infertilisantes qui correspondent aux ensemencements de la bactérie neuve et de la bactérie ayant subi toutes les phases de l'accoutumance, au moins dans les limites du temps de l'expérience :

		Valeur de DI. pour la bactérie neuve	Valeur de DI. au maximum d'accou- tumance	Valeur de DI. à la fin de l'expé- rience
<i>Bacillus subtilis</i>	Résorcine	4.02	6.41	3.97
	Acide salicylique..	0.68	2.05	1.04
	Sulfate de cuivre ..	0.45	0.74	0.74
	Bichlor. de mercure	0.07	0.93	0.05
<i>Bacillus anthracis</i>	Résorcine	0.45	0.79	0.53
	Acide salicylique..	0.44	1 »	1 »
	Sulfate de cuivre..	0.44	0.79	0.05
	Bichlor. de mercure	0.03	0.03	0.03
<i>Bacillus pyocyaneus</i>	Résorcine	3 »	4.98	2.98
	Acide salicylique..	1.02	1.71	0.69
	Sulfate de cuivre..	1.71	2.27	1.48
	Bichlor. de mercure	0.28	0.93	0.18

La comparaison des chiffres de la première et de la dernière colonne de ce tableau, de même que l'examen direct des graphiques I, II et III fait ressortir la sensibilité acquise par la bactérie qui a subi toutes les phases de l'acclimatation.

Peu marquée chez le *Bacillus pyocyaneus*, sauf en ce qui concerne l'action de l'acide salicylique, elle est presque nulle chez le *Bacillus subtilis* et chez le *Bacillus anthracis*, sauf en ce qui concerne, pour ce dernier bacille l'action du sulfate de cuivre. Avec cet antiseptique, la régression de l'accoutumance est figurée par une chute

brusque, et la bactérie devient très sensible aux moindres doses d'antiseptique.

Il faut noter d'autre part, à propos de la même bactérie, que des phénomènes de sensibilité momentanée aux antiseptiques peuvent se manifester pendant la période de l'accoutumance.

Les courbes « résorcine » et « acide salicylique » du tableau III sont à cet égard instructives ; un maximum de sensibilité se produit avant le maximum de résistance.

On observe des faits analogues dans le tableau II, avec l'action de la résorcine et du sulfate de cuivre sur le *Bacillus subtilis*.

Enfin, dans tous les cas où les phénomènes de sensibilité momentanée qui précèdent le maximum de résistance n'apparaissent pas nettement, on observe tout au moins un temps d'arrêt dans l'acclimatation qui se manifeste sur les graphiques par un fléchissement de la courbe ou même par un plateau qui correspond à l'égalité de résistance de deux ou plusieurs races successives. On retrouve ces plateaux avec une régularité parfaite pour toutes les courbes d'adaptation du *Bacillus pyocyaneus* (tableau I) ; avec le *Bacillus subtilis* les courbes de l'acide salicylique et du sublimé s'infléchissent (tableau II) ; enfin pour le *Bacillus anthracis* le temps d'arrêt est encore figuré par un plateau pour la courbe du sulfate de cuivre.

On ne peut tirer aucune conclusion, à ce point de vue, de la courbe du sublimé. Vis-à-vis de cette substance, la sensibilité de la Bactéridie charbonneuse est telle que la dose de la première résistance ne peut jamais être dépassée : en d'autres termes, il n'y a pas d'acclimatation.

Que faut-il penser de l'excès de sensibilité manifestée par les bactéries après avoir passé par un maximum de résistance ? S'agit-il d'une propriété stable et durable de race nouvelle ? Pour donner une réponse définitive à cette

question, il faudrait prolonger les expériences pendant un temps très long, en tout cas hors des limites que nous nous étions assignés pour ce travail.

S'il nous est permis d'émettre un avis personnel sur ce point, nous pensons que l'allure des courbes des graphiques indique un retour à la sensibilité normale. Ce retour se retrouve d'ailleurs sensiblement réalisé dans quelques cas ; si le *Bacillus pyocyaneus* montre, sous ce rapport, une tendance très nette à demeurer en dessous de sa résistance première, les chiffres de fin d'expérience pour les deux autres bactéries étudiées oscillent au-dessus et au-dessous de ceux qui expriment la dose infertilisante initiale.

CHAPITRE VII.

Mécanisme de l'adaptation.

Dans les expériences qui précèdent, nous avons établi la loi très constante suivant laquelle se fait l'adaptation d'une bactérie à des doses croissantes d'antiseptique. On peut la formuler comme il suit, étant entendu qu'elle s'applique aux trois bactéries et aux quatre substances antiseptiques étudiées dans ce travail.

L'accoutumance à des doses croissantes d'antiseptique est un phénomène temporaire ; après avoir passé par un maximum, l'accoutumance subit une régression et tend vers un retour à la résistance initiale et normale pour l'espèce considérée.

Il est important de noter que l'accoutumance se fait par étapes, et, par convention, nous avons désigné sous le nom de *racés* les états successifs de l'organisme mis en expérience. C'est un fait constant en effet que l'accoutumance ne s'exerce qu'à la condition qu'on permette à la bactérie de reprendre, pour un temps, sa vie en milieu normal avant de subir de nouveau l'influence nocive à laquelle elle s'adaptera plus avant. Il semble que l'organisme, épuisé par la lutte, ait besoin de reprendre une certaine vitalité.

Si maintenant on étudie attentivement la manière dont se comportent les bactéries pendant chacune des étapes de leur adaptation, on voit qu'il existe des différences sui-

vant qu'on s'adresse aux bacilles sporogènes ou à ceux qui sont dépourvus de la faculté de sporuler.

Examinons à ce point de vue, le *Bacillus pyocyaneus*, non sporogène, et le *Bacillus subtilis*, où la spore fait partie de l'évolution de la cellule.

Les tableaux suivants montrent tout d'abord, pour le *Bacillus pyocyaneus*, dans quelles conditions de temps les milieux antiseptisés deviennent fertiles lorsqu'on fait les repiquages successifs de tube à tube.

Le signe + désigne les repiquages fertiles, le signe — ceux qui sont suivis d'insuccès.

<i>B. pyocyaneus</i> : Resorcine.							
Titre	1.06	1.59	2.10	2.45	2.60	2.98	3.18
1 ^{er} jour.....	+	+	—	—	—	—	—
2 ^e —			—	+	+	+	+
3 ^e —			+				

<i>B. pyocyaneus</i> : Sulfate de cuivre.					
Titre	0.53	1.06	1.47	1.59	1.95
1 ^{er} jour.....	+	+	—	—	—
2 ^e —			+	+	+

<i>B. pyocyaneus</i> : Sublimé.						
Titre	0.03	0.06	0.10	0.13	0.17	0.20
1 ^{er} jour.....	+	—	—	—	—	—
2 ^e —		+	—	—	+	—
3 ^e —			+	+		+

Pour les premiers repiquages où la dose d'antiseptique est faible, l'ensemencement fait le premier jour du développement se montre fertile. Ensuite il y a un retard et ce n'est qu'après deux ou même trois jours de contact avec de l'antiseptique que la bactérie peut donner un ensemencement fécond. Il semble donc que c'est aux formes vieilles qu'appartient la propriété de résistance à une dose supérieure nocive et que les jeunes générations ne la possèdent pas.

Cette notion se précise si l'on examine de la même façon le mode d'adaptation du *Bacillus subtilis* exprimée par les mêmes symboles dans les tableaux qui suivent :

<i>B. subtilis</i> : Résorcine.							
Titre	2,10	2,60	3,10	3,71	4,20	4,70	4,92
1 ^{er} jour.....	+	+	—	—	—	—	—
2 ^e —			—	—	—	—	—
3 ^e —			+	+	—	—	—
4 ^e —					—	—	+
4 ^e —					+	+	

<i>B. subtilis</i> : Sulfate de cuivre.					
Titre	0,19	0,21	0,31	0,53	0,58
1 ^{er} jour.....	+	—	—	—	—
2 ^e —		+	+	—	—
3 ^e —				—	—
4 ^e —				—	—
5 ^e —				—	+
6 ^e —				+	

<i>B. subtilis</i> : Sublimé.			
Titre	0,03	0,06	0,10
1 ^{er} jour.....	—	—	—
2 ^e —	—	—	—
3 ^e —	—	—	—
4 ^e —	+	+	—
5 ^e —			+

Là encore, nous observons le phénomène du retard dans la fertilité des repiquages à mesure que s'accroît la dose d'antiseptique. Toutefois, le retard est plus accentué et peut atteindre cinq à six jours pour les fortes doses. Les formes vieilles se montrent fertiles en milieu plus nocif et ces formes vieilles correspondent à la sporulation du bacille. C'est donc ici la spore qui transmet à

la germination nouvelle la faculté de résistance qu'elle a acquise, comme c'est la spore qui transmet par exemple l'atténuation de virulence chez le *Bacillus anthracis* (KOCH [44], ROUX et CHAMBERLAND [16]). Les jeunes bacilles se montrent au contraire incapables de fertiliser un milieu plus fortement antiseptisé que celui dans lequel ils ont pris naissance.

La spore nous apparaît ainsi comme jouant le rôle le plus important dans la transmission des propriétés acquises. Ce fait n'est pas en contradiction avec ce que nous avons observé sur l'accoutumance aux antiseptiques chez le *Bacillus pyocyaneus*. Cette bactérie n'est pas sporifère, mais ce sont les formes vieilles qui jouent le rôle de la spore dans la transmission des propriétés.

Ces formes vieilles chez le *Bacillus pyocyaneus* ont d'ailleurs des propriétés de résistance qui en font l'équivalent physiologique de spores véritables et nous avons pu, par des expériences directes, nous assurer de la réalité du fait. Nous exposerons plus loin le résultat de ces essais en traitant des modifications morphologiques provoquées par les antiseptiques.

CHAPITRE VIII.

Comparaison des données publiées sur l'accoutumance des Bactéries aux antiseptiques.

Si maintenant nous comparons aux observations antérieurement publiées les résultats de nos essais sur l'accoutumance des bactéries aux antiseptiques, nous pourrons faire le départ entre ces résultats et ceux de nos devanciers.

Cette accoutumance aux antiseptiques et en général aux conditions extérieures défavorables a été étudiée par un assez grand nombre d'auteurs : DANCKE [22 bis] signale un *Spirillum* du fromage qui, cultivé sur gélatine, perd *temporairement* la faculté de se développer à haute température. KRUSE et PANSINI [46 bis] ont montré que le *Pneumocoque* maintenu pendant un temps assez long, dans des conditions de culture non favorables pouvait ensuite se cultiver plus facilement à des températures très basses. DIEUDONNÉ [29] de même a amené la Bactéridie charbonneuse à se développer facilement à 10° et à 42°.

L'étude de l'action des antiseptiques a fourni des résultats analogues : outre KOSSIAKOF [46] qui a amené le *Tyrothrix tenuis* et le *Bacillus subtilis* à supporter des doses croissantes d'antiseptique, TRAMBUSTI [78] a pu faire vivre des pneumocoques dans une solution de sublimé à 1/2000 alors qu'elles ne végétaient en temps normal qu'à 1/15000.

GALÉOTTI [32] a habitué le *Bacillus prodigiosus* à l'action de différents poisons, au point que des doses qui, dès le début, supprimaient toute production de pigment, ne la suppriment plus chez le bacille habitué.

MAASSEN [49] a démontré, dans ces derniers temps, que certaines bactéries peuvent s'accoutumer aux sels neutres et en particulier au chlorure de lithium.

Toutes ces observations s'accordent donc à démontrer que les bactéries ont la faculté de s'accoutumer aux conditions de vie défavorables créés par l'action de la chaleur et des corps chimiques.

Aucun observateur ne paraît, avant nous, avoir démontré que *les générations bactériennes dérivant de celle qui offre la plus grande résistance aux antiseptiques deviennent de moins en moins aptes à supporter l'action de ces corps. Nous avons caractérisé ce phénomène en disant que l'accoutumance aux antiseptiques est temporaire.*

CHAPITRE IX.

Comparaison des données publiées sur les valeurs du pouvoir antiseptique des substances chimiques vis-à-vis des bactéries non adaptées.

Indépendamment de la question de l'accoutumance des bactéries aux antiseptiques qui a spécialement attiré notre attention, on peut jeter un coup d'œil de comparaison entre les valeurs des doses infertilisantes que nous avons déterminées et celles qui ont fait l'objet de publications antérieures. Il s'agit ici seulement des doses qui s'appliquent à des bactéries normales, non adaptées. Une utile comparaison ne pouvant porter que sur les Bactéries et les substances chimiques mises en expérience dans notre travail, il sera souvent difficile de tirer des conclusions fermes, faute de concordance entre les méthodes employées et les sujets d'expérience choisis.

Les données antérieures concernant l'action des antiseptiques sont abondantes pour la Bactéridie charbonneuse, objet d'étude d'un intérêt pratique qui s'est depuis longtemps imposé ; la facilité d'obtention et d'identification du *Bacillus subtilis* n'a pas suffi pour accumuler sur cette espèce de nombreuses expériences, et quant au *Bacillus pyocyaneus*, s'il a été bien étudié à d'autres points de vue, il n'a pas été très employé pour les essais sur l'action des antiseptiques.

En ce qui concerne les substances chimiques essayées, alors que nous avons des résultats nombreux sur l'action

du sublimé et du sulfate de cuivre, l'acide salicylique a été fort peu expérimenté et nous n'avons trouvé aucun résultat pour la résorcine.

La plupart des auteurs ont cherché à déterminer la quantité d'antiseptique suffisante pour empêcher les bactéries de se développer dans un litre de bouillon laissé en contact avec l'air extérieur. L'ensemencement se trouve ainsi abandonné au hasard et nous ne pouvons que supposer que le *Bacillus subtilis*, en raison de son ubiquité, faisait partie de cette semence fortuite.

Voici les doses infertilisantes indiquées par quelques auteurs :

Auteurs	Bichlorure de mercure	Acide salicylique	Sulfate de cuivre
JALAN DE LA CROIX [43].	0,05	1,07	»
BUCHOLTZ [14].....	0,05	1,51	»
DUCLAUX [27]	0,04	1,00	»
MIQUEL [55]	0,07	1,00	0,90
RATIMOFF [69].....	0,0033	»	»
CONSTANTIN PAUL [21]...	0,05	»	0,90
WERNICH [84].....	0,50	»	»

D'autre part GRACE CAVERT [15] voit tout développement arrêté avec une dose de sublimé de 1 pour 1000 et PETIT [68 bis] de 1 pour 100.

Sans nous arrêter à ces derniers chiffres qui, évidemment exagérés, ne sont pas comparables avec les précédents, nous constatons pour le sublimé une variation allant de 0,003 à 0,07. Cette dernière dose est identique à celle que nous avons trouvée capable d'empêcher le développement du *Bacillus subtilis*.

Si nous considérons les chiffres fournis pour le *Bacillus anthracis*, le développement du bacille est arrêté pour :

KOCH [44] par 0,003 de sublimé et 0,66 d'acide salicylique.

KOSSIAKOF [46] par 0,05 de sublimé.

HEINICH [39] par 0,004 de sublimé.

GEPPERT [33] par 1 gr. de sublimé.

BEHRING [8] constate que le bacille est tué à 36° en une heure, dans une solution à 0,01 pour 1000 de ce sel.

VIQUERAT [81] affirme que le développement du même bacille est empêché, quand il est mis en contact pendant 15 minutes avec une solution à 1 pour 1.000.

Le chiffre que nous avons déterminé est 0,03. Toutefois, au bout de vingt-quatre heures, si on sème la bactérie sur milieu normal, elle repousse. Ce n'est qu'au sixième repiquage que l'on voit la bactérie incapable de supporter une trace de sel mercurique. Le développement n'est cependant pas arrêté, puisque dans ce cas elle végète encore sur milieu normal.

Au sujet du *Bacillus pyocyaneus* :

CHARRIN et ROGER [17] montrent que trois centigrammes de sublimé par litre, empêchent la formation de la pyocyanine et du pigment, et que quatre centigrammes tuent le bacille.

Pour VIQUERAT [81], le bacille en contact, pendant 5 heures, avec une solution de sublimé à 1 pour 1000 ne végète plus.

Pour WASSERZUG [89], une solution de sublimé contenant 0,35 empêche la formation du pigment; à 1,10 le développement est arrêté.

KOSSIAKOF [46] indique le chiffre de 0,85 comme dose empêchant l'apparition du pigment, et celui de 1,10 comme en arrêtant le développement.

Le bacille dont nous nous sommes servi supporte sans acclimatation 0,20 de sublimé et jusqu'à 0,93 après accli-

matation. Dans les deux cas, nous avons constaté la formation de pyocyanine et du pigment, après un temps plus ou moins long, suivant la concentration du milieu.

Si nous examinons l'action de l'acide salicylique, nous voyons qu'il faut, pour empêcher *tout* développement microbien :

Pour JALAN DE LA CROIX [43] une dose de 1,07 par litre.

—	BUCHOLTZ [14]	—	1,51	—
—	DUCLAUX [28]	—	1	—
—	MIQUEL [55]	—	1	—

Nous avons recherché quelles doses produisaient pareil résultat pour les trois bacilles qui nous ont servi et nous avons trouvé que pour empêcher tout développement, il fallait :

0,68 pour le *Bacillus subtilis*.

0,44 — *Bacillus anthracis*.

1,02 — *Bacillus pyocyaneus*.

Le sulfate de cuivre à la dose de 0,90, empêche, d'après CONSTANTIN PAUL [21] et MIQUEL [55], le développement des bactéries dans le bouillon. Nous avons observé que :

0,53 était la limite extrême pour le *Bacillus subtilis*.

0,44 — *Bacillus anthracis*.

Mais que le *Bacillus pyocyaneus* se développait dans un milieu contenant 1,69 de ce sel.

Nous n'avons pu trouver aucune donnée concernant le pouvoir antiseptique de la résorcine.

Voici les chiffres que nous avons déterminés :

La limite de végétation pour le *B. subtilis* a lieu dans une solution contenant 3,92 par litre.

La limite de végétation pour le *B. anthracis* a lieu dans une solution contenant 0,42 par litre.

La limite de végétation pour le *B. pyocyaneus* a lieu dans une solution contenant 2,94 par litre.

Une telle diversité de chiffres réside toute entière dans ce fait que les conditions d'expérience ont différé dans chaque cas.

DUCLAUX emploie un bouillon au jus de viande, JALAN DE LA CROIX un bouillon ordinaire. BUCHOLTZ se sert d'un milieu contenant du sucre candi, du tartrate d'ammoniaque et du phosphate de chaux.

CONSTANTIN PAUL et MIQUEL emploient du bouillon de bœuf neutralisé ; GRACE CAVERT et PETIT, un substratum albumineux.

Les autres auteurs laissent dans l'ombre la composition du milieu.

La diversité des conditions d'expérience explique donc la divergence des résultats qui ne sont valables chacun que pour un cercle étroit d'expérimentation.

Nous croyons avoir suffisamment précisé les conditions expérimentales choisies pour que les chiffres que nous avons déterminés puissent être considérés comme exacts pour les bactéries choisies et les substances mises en expérience.

Nous les résumons dans le tableau suivant :

Doses infertilisantes normales des substances antiseptiques ajoutées à un milieu nutritif de composition déterminée (Voir la formule page 20).

Antiseptiques	<i>Bacillus pyocyaneus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus anthracis</i>
Résorcine.....	3,00	4,02	0,45
Acide salicylique.....	1,02	0,68	0,44
Sulfate de cuivre.....	1,74	0,45	0,44
Bichlorure de mercure .	0,28	0,07	0,03

CHAPITRE X.

Résumé des observations relatives au pléomorphisme des bactéries sous l'influence de doses croissantes d'antiseptique.

On sait que le développement d'une bactérie dans un milieu déterminé donne lieu à un pléomorphisme régulier et constant, qui fait partie du cycle évolutif normal de l'organisme.

Il importe d'en connaître parfaitement les phases pour être en état d'en apprécier les modifications accidentelles; cette étude a précédé, pour les espèces étudiées, nos expériences avec les antiseptiques. Ces variations régulières dans le cycle évolutif ne portent pas tant sur la morphologie de la cellule elle-même que sur les relations des cellules entre elles. Pour les bacilles où les divisions se font suivant une seule direction de l'espace, le pléomorphisme normal se réduit au passage de l'état dissocié à l'état filamenteux et réciproquement. De petites variations se manifestent aussi dans la dimension des éléments qui peuvent être courts ou longs suivant la rapidité plus ou moins grande du cloisonnement; elles sont en général assez faibles.

Nous retrouvons le pléomorphisme du mode d'association des cellules dans les milieux antiseptisés, mais on peut observer en outre des modifications de forme de la cellule elle-même qui, tout en obéissant plus ou moins régulièrement aux lois du cycle évolutif de l'espèce, subit

des changements provoqués par l'action de la substance nocive.

Il est à remarquer que le pléomorphisme de la cellule, se manifeste surtout sous l'action des antiseptiques peu énergiques, tels que la résorcine, par exemple. Dans ce cas, les éléments cellulaires sont modifiés dans leurs formes et leurs dimensions ; ils présentent des renflements, affectent la forme de bouteille, de clous, de chapelets, de grains plus ou moins arrondis, etc... Ce sont ces formes que les auteurs allemands désignent sous le nom de « Involutionformen » et qui peut être traduit non pas par *Formes d'Involution*, qui est peu clair, mais bien par *Formes de souffrance* ou *Formes d'adaptation*.

Leur apparition est en effet momentanée. Nous avons observé qu'elles ne se montrent qu'au début de l'adaptation, dans les deux ou trois premières étapes de l'accoutumance. Elles disparaissent ensuite pour faire place aux formes normales qui n'offrent plus que le pléomorphisme plus ou moins modifié du cycle évolutif normal.

Toutefois, si la cellule bactérienne reprend sa forme extérieure normale quand elle est adaptée aux fortes doses d'antiseptiques, elle semble différer par sa structure interne des cellules non adaptées. Cet état, qui se traduit par l'aspect du contenu de plus en plus granuleux, traduit sans doute un affaiblissement de la vitalité, car le développement est beaucoup plus lent. Certaines parties du cycle évolutif peuvent être supprimées, comme par exemple la phase de sporulation chez le *Bacillus anthracis* sous l'influence de l'acide salicylique ; il en est de même de la virulence, qui se ramène peut être à une sécrétion de toxines. Nous avons pu injecter impunément à un cobaye 5cc. de culture d'une Bactéridie charbonneuse arrivée au terme maximum de son acclimatation à l'acide salicylique alors que les cultures normales étaient très virulentes. Nos observations sur ce point ne font d'ail-

leurs que confirmer les faits d'atténuation par les antiseptiques mis en lumière par différents auteurs (CHAMBERLAND et ROUX [16], PASTEUR [59], PHISALIX [67], TOUSSAINT [77], etc...) et utilisés pour la vaccination charbonneuse.

L'atténuation de certaines fonctions accessoires, comme le pouvoir chromogène, s'observe de même chez le *Bacillus pyocyaneus* ; dans les milieux très antiseptisés, le retard d'apparition du pigment peut atteindre plusieurs mois.

Les variations morphologiques du *Bacillus pyocyaneus* au cours de l'adaptation sont les suivantes :

Au lieu de végéter en cellules dissociées comme c'est la règle en milieu normal, les bacilles s'associent en filaments dont les extrémités sont souvent renflées en massues. Cette phase filamenteuse est précédée ou non d'une forme dispersée. Au bout d'un temps plus ou moins long, les filaments se désarticulent en cellules libres, ordinairement courtes, coccoïdes. Il en est ainsi dans les premières séries, mais quand la dose s'accroît, la forme filamenteuse disparaît pour faire place aux formes normales ou, à la fin, aux formes coccoïdes qui constituent la forme ordinaire de conservation (Pl. I, fig. J).

Ces formes coccoïdes méritent une mention spéciale. Nous avons pu mettre en évidence leur remarquable résistance vitale qui en fait presque l'équivalent physiologique de l'endospore. Des cultures en bouillon du *Bacillus pyocyaneus*, vieilles de dix et de quatorze années (1), montraient la bactérie sous cette forme ; des repiquages en milieu normal se montraient fertiles en quarante-huit

(1) De ces cultures, les unes conservées au Laboratoire de Cryptogamie de l'Ecole de Pharmacie, provenaient de la collection particulière de M. le Professeur RADAIS, les autres nous avaient été fournies par M. MAHEU, préparateur à l'Ecole.

heures sans apparition de pigment ; au second repiquage, le pigment apparaissait.

Nous avons expérimenté l'action de la chaleur sur ces formes vieilles et simultanément sur la bactérie rajeunie en maintenant côte à côte, au bain-marie à 60°, deux tubes contenant respectivement les deux organismes.

Desensemencements étaient pratiqués à intervalles réguliers pendant le chauffage. Après vingt minutes, la bactérie jeune avait perdu la faculté de féconder les tubes, tandis que les formes coccoïdes vieilles résistaient plus de cinquante minutes en donnant desensemencements fertiles. GUIGNARD et CHARRIN [37] avaient considéré ces formes coccoïdes comme des arthrospores servant à la conservation dans le temps. L'expérience précédente confirme cette manière de voir.

Les variations morphologiques du *Bacillus subtilis* sous l'influence des antiseptiques comprennent aussi l'apparition d'une phase filamenteuse ; toutefois ce phénomène, qui est normal pour le cycle évolutif de l'espèce, ne devient remarquable que par l'exagération de longueur des filaments qui peuvent atteindre 400 à 500 μ (Pl. II, fig. C). Les extrémités renflées en massue sont fréquentes (Pl. II, fig. D). Enfin, au moment des étapes moyennes de l'adaptation, on observe l'altération la plus accentuée de la forme avec des renflements, des segmentations en bâtonnets, longs ou courts, figurant des cocci, ou recourbés en crosse ou en croissant (Pl. II et III, fig. A, b, c), ou encore des dilations, bosses ou renflements en bouteilles. Toutes ces formes disparaissent quand le summum d'adaptation est atteint ; elles redeviennent normales.

Le cycle évolutif du *Bacillus anthracis* ressemble beaucoup à celui du *Bacillus subtilis*, il en diffère par l'absence de voile. Aussi les modifications apportées au cycle par l'adaptation aux antiseptiques se rapprochent

de celles que l'on observe chez le *Bacillus subtilis*. C'est aussi une exagération de longueur des filaments avec remplacements des formes en massue par des formes courbes assez accentuées pour donner des anneaux ou même des hélices à plusieurs tours de spire (Pl. III, fig. A', d, e). Cette tendance de la Bactéridie charbonneuse à se vriller en spire a d'ailleurs été signalée par les auteurs. On observe aussi parfois un amincissement de l'extrémité du filament qui donne un article conique. Enfin la faculté de sporuler peut être suspendue.

Les aberrations morphologiques cessent quand la bactérie atteint son maximum de résistance à l'antiseptique.

En résumé : les aberrations de formes qui se manifestent quand les bactéries s'adaptent aux antiseptiques sont essentiellement temporaires. Si l'on rapproche cette observation de celles qui nous ont amené à conclure que l'accoutumance aux antiseptiques est elle-même une propriété acquise temporairement, nous voyons qu'il existe un *parallélisme d'évolution entre la morphologie de la bactérie et l'une de ses propriétés biologiques, la résistance aux antiseptiques*.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Des essais d'accoutumance des bactéries aux antiseptiques, pratiqués sur une bactérie asporogène, le *Bacillus pyocyaneus* et sur deux bactéries sporogènes, le *Bacillus subtilis* et le *Bacillus anthracis*, ont fourni les résultats suivants, applicables à la résorcine, à l'acide salicylique, au sulfate de cuivre et au bichlorure de mercure :

1° *Les bactéries soumises à l'action des doses croissantes d'un antiseptique peuvent acquérir la faculté de supporter des doses qui sont infertilisantes pour ces mêmes bactéries non acclimatées.* — Cette conclusion confirme simplement celle de KOSSIAKOF (1887).

2° *L'accoutumance des bactéries aux antiseptiques n'atteint son degré le plus élevé qu'en procédant par étapes dans lesquelles les doses infertilisantes d'antiseptique sont toujours précédées de doses d'abord plus faibles puis progressivement croissantes.*

3° *Les étapes successives de l'accoutumance aux antiseptiques ne présentent pas une ascension régulière jusqu'au point maximum de résistance ; il existe une phase d'adaptation moyenne pendant laquelle la Bactérie offre une sensibilité égale ou même inférieure à celle des phases antérieures.*

4° *Le degré maximum d'accoutumance aux antiseptiques est toujours suivi d'une régression de la propriété acquise.* — *L'accoutumance est un phénomène temporaire.*

5° *La régression de la propriété d'accoutumance aux antiseptiques tend vers le retour à la résistance normale*

de l'espèce ; elle s'accompagne souvent d'un état de sensibilité plus grande, probablement temporaire.

6° Les modifications morphologiques imprimées à la bactérie pendant son accoutumance aux antiseptiques sont aussi temporaires et correspondent à la phase d'adaptation ; elles disparaissent quand la bactérie a acquis son maximum de résistance. — Il existe ainsi un certain parallélisme entre la morphologie du microbe et l'une de ses propriétés biologiques, la résistance vitale aux agents chimiques.

7° Le caractère temporaire de l'adaptation des bactéries aux antiseptiques et des modifications de forme qui en sont la conséquence fournissent un exemple net de la résistance de l'espèce à la variation.

Indépendamment de ces données générales qui nous paraissent résulter de nos essais, nous avons été amenés à vérifier quelques propriétés morphologiques et biologiques des espèces bactériennes étudiées. C'est ainsi qu'en établissant expérimentalement les propriétés de résistance à la chaleur des formes coccoïdes du *Bacillus pyocyaneus*, nous avons montré que les formes qui apparaissent dans les cultures vieilles et dans celles qui présentent des conditions dysgénétiques doivent être considérées comme l'équivalent biologique des spores et représentent les *arthrospores* chez cette bactérie normalement asporogène.

Vu bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,
RADAIS.

Vu :

Le Directeur de l'Ecole,
GUIGNARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
LIARD.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

1. ADRIAN. — *Petit formulaire des antiseptiques*. Paris, O. Doin, 1892.
2. ARLOING. — *Du Charbon bactérien*. C.R. Ac. Sc., Paris, 1883.
3. BARY (DE). — *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze*. Leipzig, 1884.
4. BARY (DE). — *Vorlesungen über Bakterien*. Leipzig, 1885.
Traduit par WASSERZUG.
5. BAUMGARTEN. — *Lehrbuch der patholog. Mykologie*. Brunswick, 1890.
6. BEHRING. — *Contribution à l'étiologie du Charbon*. Zeitschr. f. Hygiene, t. VI, p. 120 et 468 (Anal. in Ann. Inst. Pasteur. 1889, p. 39).
7. BEHRING. — Deutsch. Med. Woch. 1887, n° 37 et 38.
8. — Centralblatt. f. Bakteriologie, 1888, III, p. 27.
9. BERTARELLI. — *Sul potere battericida del alcool etilico*. Il Policlinico, VII, 1900.
10. BILLET. — *Contribution à l'étude de la morphologie et du développement des bactéries* (Thèse Doct. Sciences, Paris, 1890).
11. BILLROTH. — *Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica*. Berlin, 1874.
12. BOILLAT. — Journ. f. prakt. Chem. Vol. 25, cité par FLÜGGE.
13. BREFFELD O. — *Untersuchungen über Hefpilze*. Leipzig, 1883.
14. BUCHOLTZ. — Archiv. f. experiment. Pathol. und Pharm. 1875, vol. 7, p. 81.
15. CAVERT GRACE. — *Sur le pouvoir que possèdent certaines substances de prévenir la putréfaction et le développement de la vie protoplasmique et de la moisissure*. C. R., Ac. Sc. 1872, p. 1015.

16. CHAMBERLAND et ROUX.— *Sur l'atténuation de la virulence de la Bactéridie charbonneuse sous l'influence des antiseptiques*. C. R. Ac. Sc., XCVII, 1883, p. 1090.
17. CHARRIN et ROGER H. — *Action de certaines substances sur les produits de sécrétion des microbes* (Soc. Biol., 27 oct. 1887).
18. CHRISTMAS (DE). — *Sur quelques mélanges antiseptiques et leur valeur microbienne*. Ann. Inst. Pasteur, 1892, p. 274.
19. CIENKOWSKI.— *Zur Morphologie der Bacterien*. Mémoires de l'Académie de Saint-Pétersbourg, 7^e série, XXV, 1877.
20. COHN (FERD.). — (Beiträge zur Biol. der Pflanzen) Untersuchungen über Bacterien. I, 1875, II, 1877, III, 1879-1880.
21. CONSTANTIN PAUL. — *Rapport présenté au Congrès de Thérapeutique de 1909*. Cité par MIQUEL in *Les organismes vivants de l'atmosphère*.
22. CORNIL et BABES.— *Les Bactéries*. Paris, 3^e édit., Alcan, 1890.
- 22 bis. DANCKE. — Cité in *Revue médico-thérapeutique* (juin 1909).
23. DAVAINÉ.— *Action de la chaleur sur le virus charbonneux*. C. R. Ac. Sc., sept. 1873.
24. DAVAINÉ. — *Dictionnaire encyclopédique des Sciences médicales*, 1868, art. « Bactérie ».
25. DAVAINÉ. — *Action des substances antiseptiques sur les Bactéries* C. R. Ac. Sc., sept. 1875.
26. DUJARDIN.— *Histoire naturelle des Zoophytes-Infusoires*. Paris, 1841.
27. DUCLAUX. — *Action antiseptique de l'acide formique* Ann. Inst. Pasteur, 1887, p. 465.
28. DUCLAUX.— *Traité de Microbiologie*, t. I, 1898.
29. DIEUDONNÉ.— *Biolog. Centralblat*, XV année, p. 109.
30. EHRENBURG. — *Die Infusionstierchen als Vollkommene Organismen*. Berlin, 1838.
31. FLÜGGE.— *Die Microorganismen*. Leipzig, 1896.
32. GALEOTTI.— *Lo Sperimentale* (XL-VII).

33. GEPPERT.— *Zur Lehre von der Antiseptis* (Berl. Klin. Wochenschr., 1889. (Cité par NOCARD et LECLAINCHE : Maladies microbiennes des animaux).
34. GESSARD.— *Essai sur la biologie du Bacille pyocyanique*. Ann. Inst. Pasteur. XVI, 1902, p. 313.
35. GIANLUCCO. — *Sullo sviluppo dei batteri en terreni di coltura continente alogeni*. Ann. d'Ig. sperim., XVIII, p. 255-266 (Analyse in Bull. Inst. Pasteur, VI, p. 857, 1908).
37. GUÉGUEN F. — *Sur une méthode précise de détermination des pouvoirs antiseptiques* (Soc. Biol., XIV, 1908, p. 364).
37. GUIGNARD et CHARRIN. — *Sur les variations morphologiques des microbes*. C. R. Ac. Sc., 5 décembre 1887.
38. GRIMBERT L.— *Diagnostic des Bactéries par leurs fonctions biochimiques* (Thèse de Doct. Méd., Paris, 1903).
39. HEINSCH.— *Sur les propriétés antiseptiques de l'hydroxylamine*. Ann. Inst. Pasteur, III, 1889, p. 439.
40. HOFFMANN.— *Mémoire sur les Bactéries* (Trad. in Ann. Sci. nat. Bot., 5^e série, XI, 1869).
41. HUEPPE. — *Die Methoden der Bakterien Forschung*, 3^e édition, 1886, Wiesbaden.
42. HUGOUNENCQ et ERAUD. — *Action de certaines matières colorantes dérivés de la houille sur le développement et la virulence de quelques microbes* (Soc. Biol., XLIII, 1891, p. 151).
43. JALAN DE LA CROIX.— *Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen einige Antiseptica*. Arch. fur experim. Pathol., XIII, 1881, p. 175.
44. KOCH. — Mitheil. aus dem Kais. Gesundheitsamt, tome I, 1881.
45. KÖNIG. — *Sublimatdampfe*. Chirurg. Centralblat, 1885, n° 12.
46. KOSSIAKOF. *Sur l'accoutumance aux antiseptiques*. Ann. Inst. Pasteur, I, 1887, p. 465.
- 46 bis. KRUSE et PANSINI. — Cité in *Revue médico-thérapeutique* (juin 1908).
47. LANKASTER (Ray.).— *The pleomorphism of Bacteria*. The Lancet, 1886.

48. LEUVENHOECK.— *Arcana naturæ detecta* Leyde, 1722.
49. MAASSEN. — Arbeiten am dem kaiserl. Gesundheitsamt VXXI, p. 385.
50. MACÉ.— *Traité de Bactériologie*, 5^e édition, Paris, 1904.
51. MAGNIN.— *Les Bactéries*, Paris, 1878.
52. MARTIN.— *Recherches sur la structure et le développement des Bactériens ou Vibrioniens* (Soc. Biol., 1876-1877).
53. METCHNIKOFF (E). — *Contribution à l'étude du pléomorphisme des Bactéries*. Ann. Inst. Pasteur, 1889, p. 60.
54. MINERVINI.— *Ueber die baktericide Wirkung des Alkohols*. Zeitsch. für Hygiene, XXIX, 1898, p. 117.
55. MIQUEL.— *Annuaire de l'observatoire de Montsouris*, 1883, p. 429 et 1884, p. 561.
56. MIQUEL.— *Les organismes vivants de l'atmosphère*. Paris, 1883.
57. MIQUEL.— *Antiseptiques et Bactéries*. Semaine Médicale, 1883.
- 57 bis. NÄGELI (C). — *Untersuchungen über niedere Pilze aus dem Pflanzen physiologischen Institut in München*. München und Leipzig, 1882.
58. NOCARD et LECLAINCHE. — *Les maladies microbiennes des animaux*, 3^e édit., Paris, 1903.
59. PASTEUR L.— *Etiologie et prophylaxie du Charbon*. C. R. Ac. Sc. juillet, 1880.
60. PASTEUR, CHAMBERLAND et ROUX. — *Sur l'étiologie du Charbon*. C. R. Ac. Sc., novemb. 1880
61. PEJU et RAJAT. — *Polymorphisme des Bactéries en présence de l'Iodure de potassium* (Soc. Biol., 1906, pp. 816 et 1013).
62. PEJU et RAJAT.— *Fixation des couleurs par les Bactéries* (Soc. Biol., 1907, p. 954).
63. PEJU et RAJAT. — *Parallélisme de l'évolution des caractères morphologiques du Bacille d'Eberth et de ses caractères biologiques* (Soc. Biol., 1906, p. 494).
64. PEJU et RAJAT.— *Note sur le polymorphisme des bactéries dans l'urée* (Soc. Biol., 1906, p. 477).

65. PEJU et RAJAT. — *Morphologie du Bacille de la Tuberculose humaine dans les milieux salins* (Soc. Biol., 1907 pp. 427 et 681).
66. PEJU et RAJAT. — *Sur l'étendue et la mesure du polymorphisme des Bactéries par les agents chimiques* (Soc. Biol., 1907, p. 735).
67. PHISALIX. — *Sur une variation du Bacillus anthracis à forme courte asporogène* (Soc. Biol., 4 août 1900).
68. PETERMANN. — *Immunité contre le Charbon par les albumoses*. Ann. Inst. Pasteur, 1892, p. 32.
- 68 bis. PETIT. — Cité in *Revue médico-thérapeutique* (juin 1909).
69. RATIMOFF. — *Revue scientifique*, t, I, p. 797.
70. RICHET Ch. — *Dictionnaire de physiologie*, article « Bactérie ».
71. ROBIN C. — *Des végétaux qui croissent sur les animaux vivants*, Paris, 1847.
72. ROBIN C. — *Histoire naturelle des végétaux parasites de l'homme et des animaux*, Paris, 1853.
73. RODET. — *De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique*, Paris, 1890.
74. ROUX. — *De l'action de la chaleur et de l'air sur les spores de la Bactéridie charbonneuse*. Ann. Inst. Pasteur, II, 1898, p. 60.
75. ROUX et CHAMBERLAND. — *Sur l'immunité contre le Charbon conférée par des substances chimiques*, Ann. Inst. Pasteur, 1888, p. 405.
76. SARTORY et NONNOTE. — *Contribution à l'étude du Bacillus anthracis* (Soc. Biol., 1908, p. 215).
- 76 bis. SEDILLOT. — *De l'influence des découvertes de M. Pasteur sur les progrès de la chirurgie*. C. R. Ac. Sc, 1878, p. 634.
77. TOUSSAINT. — *De l'immunité pour le Charbon acquise à la suite d'inoculations préventives*. C. R. Ac. Sc., 1880.
78. TRAMBUSTI. — *Lo Sperimentale*, 1892 Anal. in *Centralblatt für Bakteriologie*, XIII, p. 673).
79. VALLIN. — *Traité des désinfectants et de la désinfection*, Paris, 1883.

80. VAN TIEGHEM. — *Traité de Botanique*, 1883.
des solutions de biiodure, de bichlorure de mercure et
81. VIQUERAT. — *Etude comparative sur la valeur antiseptique des solutions de biiodure, de bichlorure de mercure et de fluosilicate de fer* Ann. de micr., 90, II, 1889, p. 219 et 275.
82. WEILL. — *Zur Biologie der Milzbrandbacillus* (Thèse de Berne, 1889.
83. WEILL. — *Die Sporenauskeimung*. Archiv. für Hygiene, XXXIX, 1901.
84. WERNICH. — *Grundriss. der Desinfectionslehre*, Vienne et Leipzig, 1880.
85. YERSIN. — *Action de quelques antiseptiques et de la chaleur sur le bacille de la tuberculose*. Ann. Inst. Pasteur, II, 1898, p. 60.
86. WASSERZUG. — *Variations des formes chez les Bactéries*. Ann. Inst. Pasteur, II, 1887.
87. WASSERZUG. — *Variations durables de la forme et de la fonction*, Ibid., 1888.
89. WASSERZUG. — *Sur la formation de la matière colorante chez le Bacillus pyocyaneus*. Ann. Inst. Pasteur, 1887, p. 581.
90. WARRIKOF. — *Wirkungen einiger antiseptica auf Milzbrandcontagium*, Dorpat, 1883.
91. WILSON. — *Pleomorphism as exhibited by Bacteria grown on media containing urea*. Journ. of Pathol. und Bacteriology, XI, 1907, p. 394.
92. WINOGRADSKY. S. — *Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Bakterien*, Leipzig, 1888.
93. ZÖPPF W. — *Die Spaltpilze*, Breslau, 1884.
94. — *Zur Morphologie der Spaltpilzen*, Breslau, 1882.
-

Races N A B C D E F G H

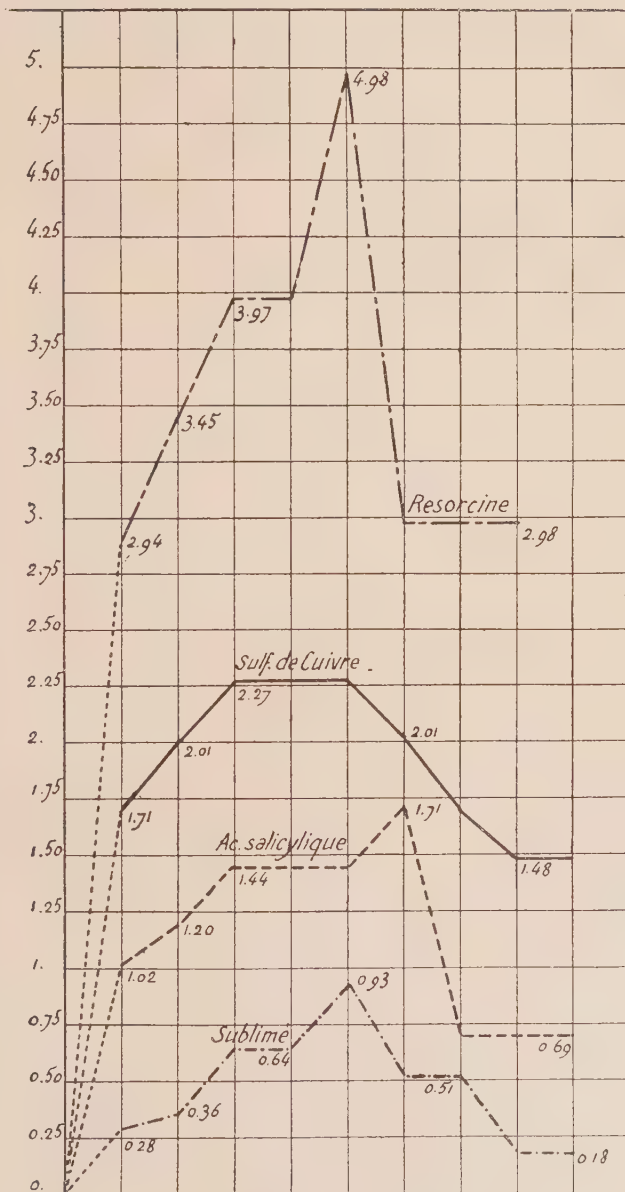


TABLEAU I. — *Bacillus pyocyaneus*
Courbes d'adaptation de la bactérie aux antiseptiques.

Races N A B C D E F G H

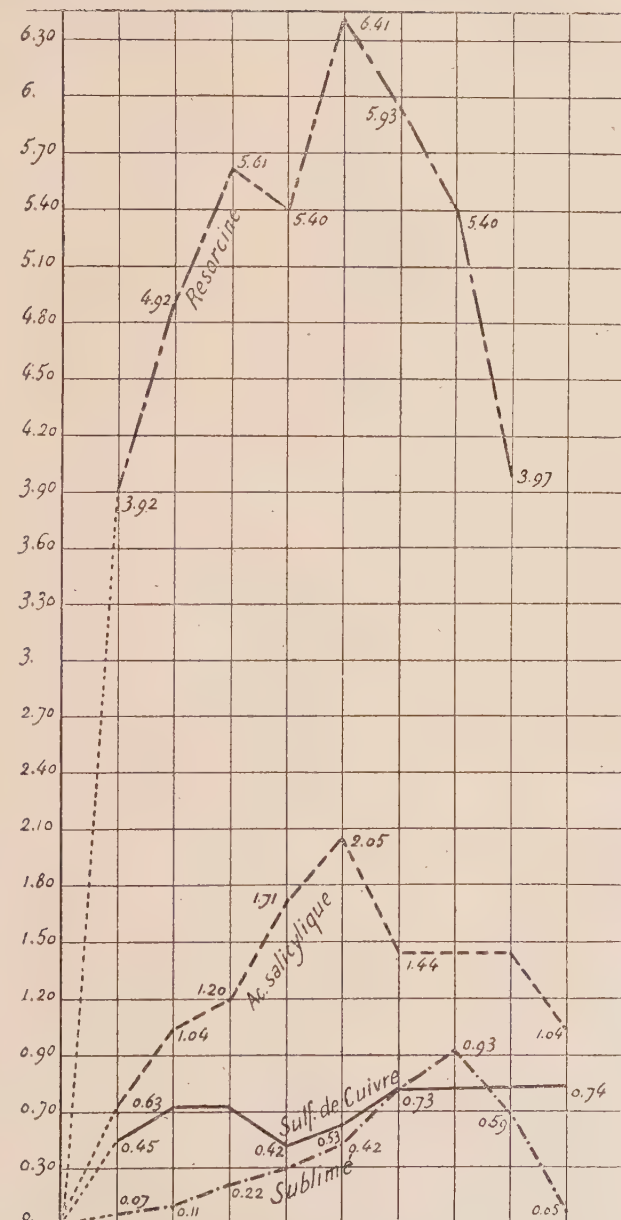


TABLEAU II. — *Bacillus subtilis*.
Courbes d'adaptation de la bactérie aux antiseptiques.

Races N A B C D E F G H

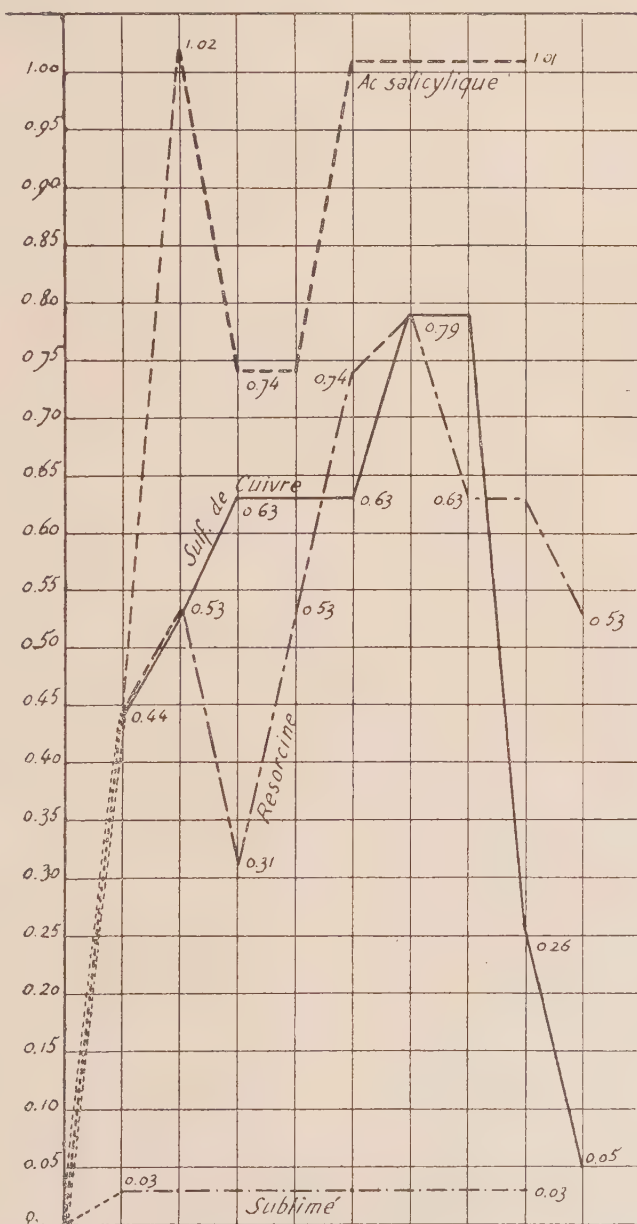
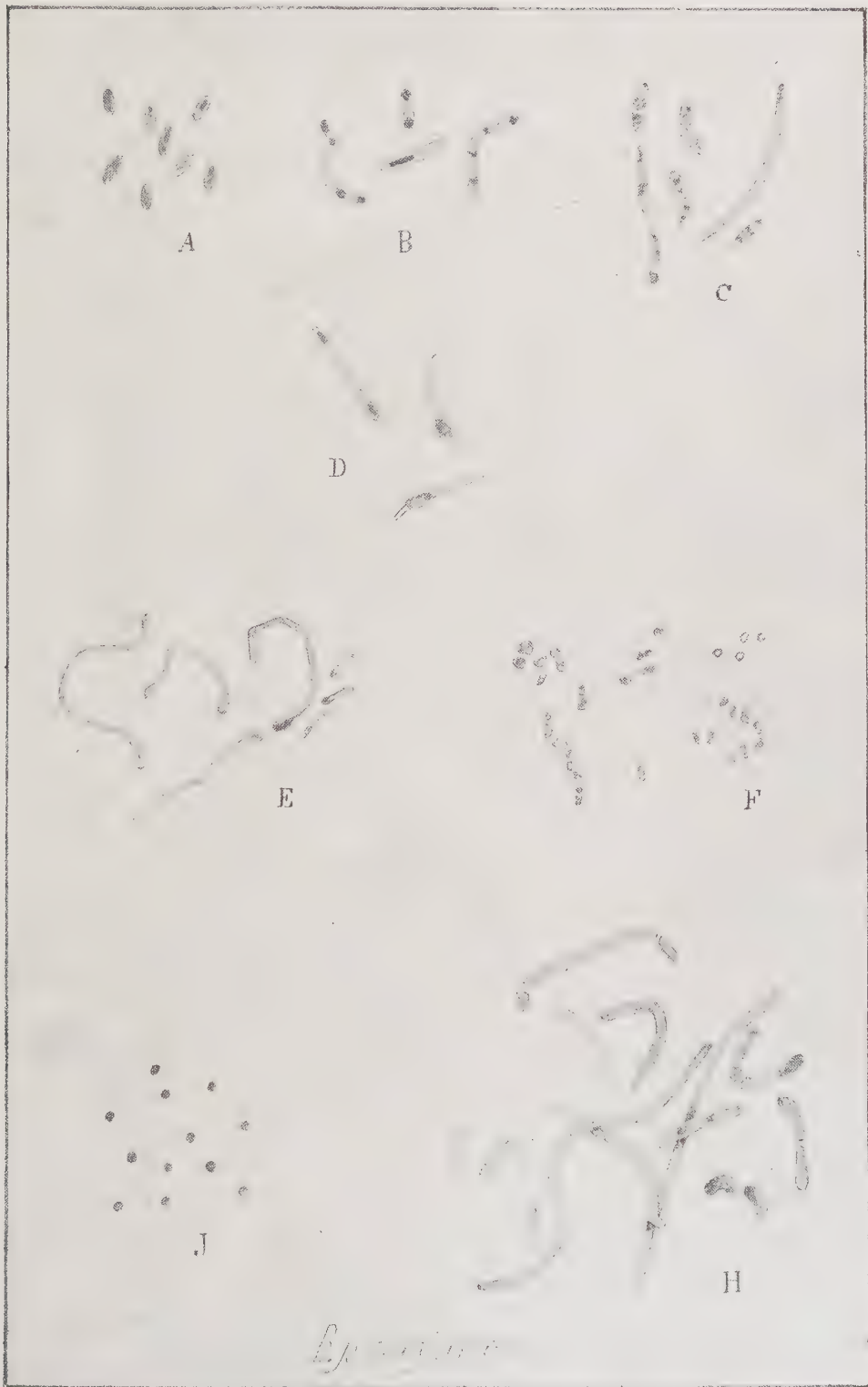
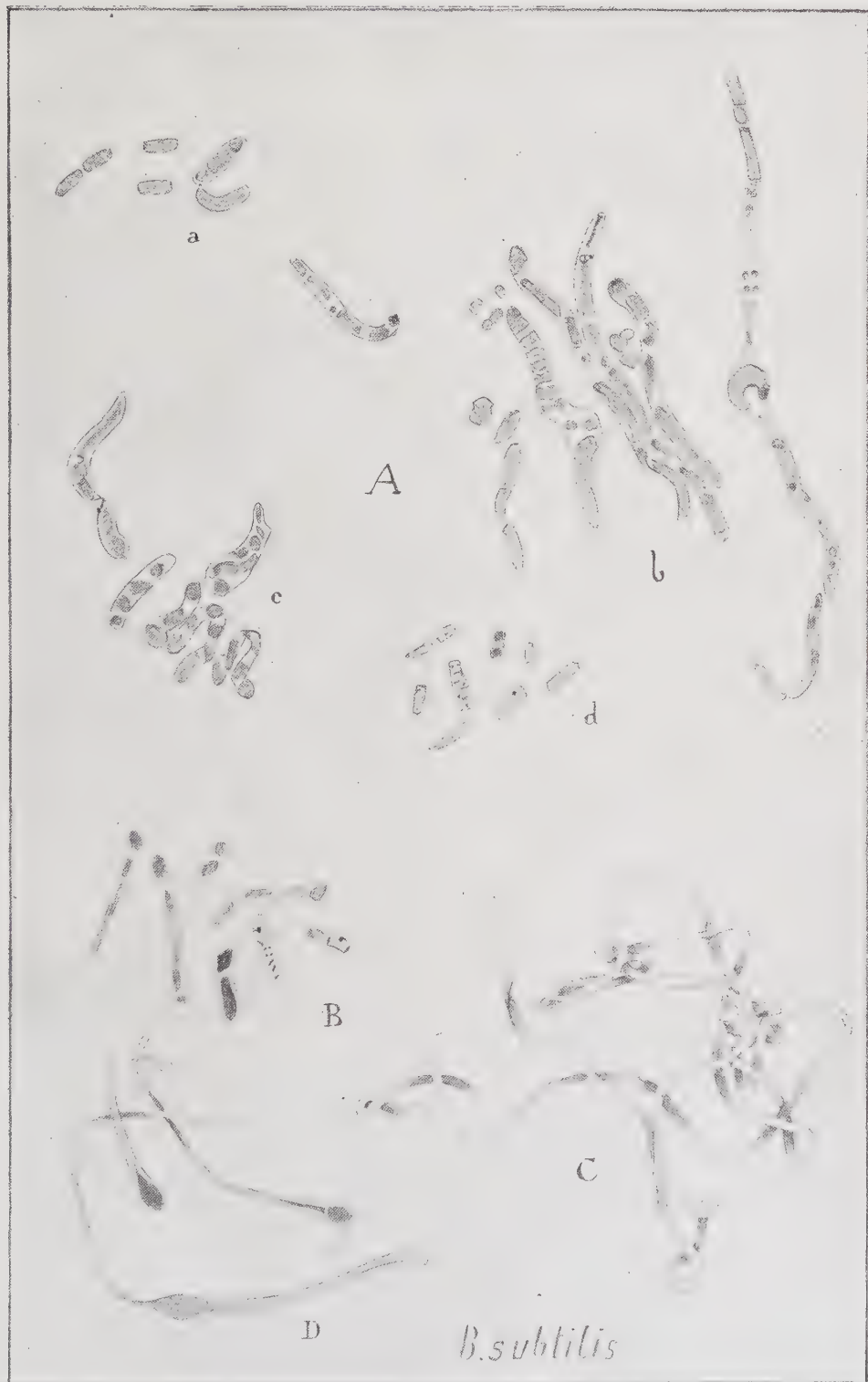
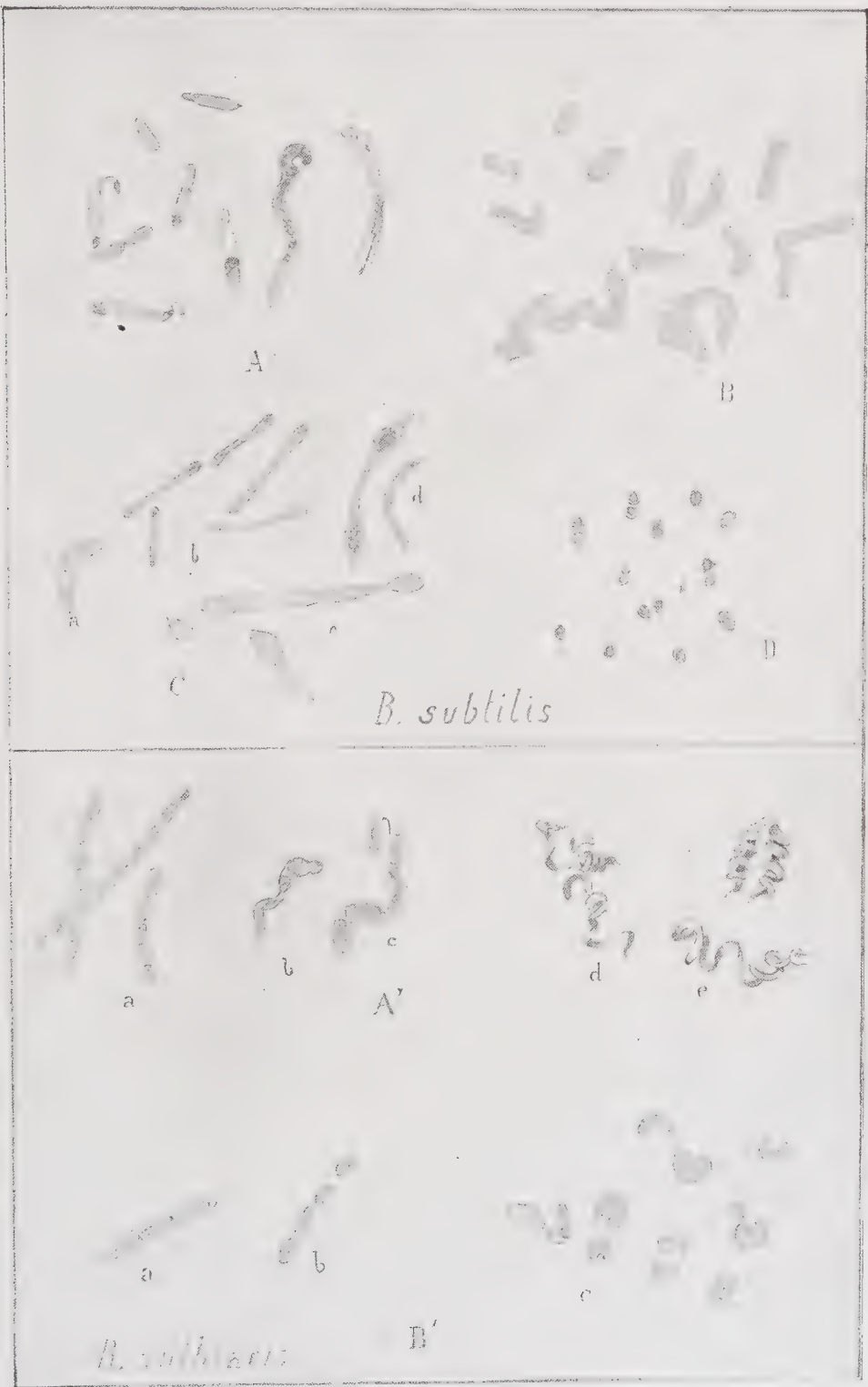


TABLEAU III. — *Bacillus anthracis*.
Courbes d'adaptation de la bactérie aux antiseptiques.







EXPLICATION DES TABLEAUX ET DES PLANCHES.

TABLEAU I.

Bacillus pyocyaneus.

Courbes d'adaptation aux antiseptiques. — Les chiffres expriment le titre en grammes de la substance par litre.

TABLEAU II.

Bacillus subtilis.

Courbes d'adaptation aux antiseptiques. — Les chiffres expriment le titre en grammes par litre.

TABLEAU III.

Bacillus anthracis.

Courbes d'adaptation aux antiseptiques. — Les chiffres expriment le titre en grammes par litre.

PLANCHE I.

Bacillus pyocyaneus.

A, B, C, D. — Formes de souffrance dans le cycle évolutif de la race A sur résorcine.

E. — Formes de souffrance de la race A sur acide salicylique.

F. — — — — sur sulfate de cuivre.

- H. — Cycle évolutif avec formes de souffrance de la race B sur résorcine.
J. — Formes coccoïdes sur culture vieille.
-

PLANCHE II.

Bacillus subtilis.

- A, *a*, *b*, *c*, *d*. — Formes de souffrance de la race A sur résorcine.
B. — Formes en massue de la race B sur acide salicylique.
C. — Longs filaments de la race D sur sulfate de cuivre.
— Ampl. : 1300 D.
D. — Éléments en massue de la race B sur résorcine.
-

PLANCHE III.

Bacillus subtilis.

- A. — Formes de souffrance de la race B sur sulfate de cuivre.
B. — — — C. — —
C. — Éléments en massue de la race E sur résorcine.
D. — — — gros cocci de la race B sur sublimé.
-

Bacillus anthracis.

- A', *a*, *b*, *c*, *d*, *e*. — Passage de la forme rectiligne à la forme en hélice de la race C sur résorcine.
B'. — Passage de la forme droite à la forme courbe de la race A sur résorcine.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION.....	5

PREMIÈRE PARTIE.

Historique de l'action des Antiseptiques sur les Bactéries.	11
---	----

SECONDE PARTIE.

Recherches personnelles.

CHAPITRE I. — Méthode et technique.....	17
CHAPITRE II. — Action de l'éosine sur les bacilles vivants.....	23
CHAPITRE III. — Action des antiseptiques sur le <i>Ba- cillus pyocyaneus</i>	29
CHAPITRE IV. — — — <i>Bacillus subtilis</i> ...	39
CHAPITRE V. — — — <i>Bacillus anthracis</i> .	51
CHAPITRE VI. — Résumé des expériences sur l'accoutu- mance aux antiseptiques	60
CHAPITRE VII. — Mécanisme de l'adaptation des bactéries aux antiseptiques.....	66
CHAPITRE VIII. — Comparaison des données publiées sur l'accoutumance des bactéries aux antiseptiques	71

CHAPITRE IX. — Comparaison des données publiées sur les valeurs du pouvoir antiseptique des substances chimiques vis-à-vis des bactéries non adaptées.....	73
CHAPITRE X. — Résumé des observations relatives au pléomorphisme des bactéries sous l'influence de doses croissantes d'an- tiseptique	78
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.....	83
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.....	85

ERRATA.

- Page 9. — 14^e ligne. — *Lire* : WINOGRADSKY au lieu de WINOGRADSKI.
— 28. — 24^c — — *Lire* : 0,45 au lieu de 0,53
— 29. — 2^e — — *Lire* : pyocyaneus au lieu de : Pyocyaneus.
— 39. — 7^c — — *Lire* : 4,92 au lieu de : 4,02.
— 44. — 17^e — — — 2,05 — 1,05.
— 45. — 8^e — — — 2,05 — 1,44.
— 45. — 23^e — — — 0,45 — 0,53.
— 46. — 10^e — — — 0,63 — 0,62.
— 49. — 23^e — — — . jours — ours.
— 90. — Supprimer la 2^e ligne.
-

